

Formulara, prepararea și evaluarea calității unor geluri hidroetanolic pe bază de hidroxiopropilmetilceluloză conținând clorhidrat de propranolol 3% și terpene

FORMULATION, PREPARATION AND EVALUATION OF HPMC-BASED HYDROETHANOLIC GELS CONTAINING PROPRANOLOL HYDROCHLORIDE 3% AND TERPENES

Lavinia Vlaia¹, Ioana Olariu¹, Georgeta Coneac¹, Ana Maria Muț¹, Vicențiu Vlaia², Zoltan Szabadai³, Dumitru Lupuleasa⁴

¹Disciplina Tehnologie Farmaceutică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara

²Disciplina Chimie Organică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara

³Disciplina Analiza Medicamentului, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara

⁴Disciplina Tehnologie Farmaceutică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

REZUMAT

Clorhidratul de propranolol (PRHCl), un antagonist β -adrenergic neselectiv din a doua generație de β -blocante, este un candidat ideal pentru aplicații percutanate, deoarece prezintă un timp de înjumătățire scurt și o biodisponibilitate sistemică relativ mică după administrare orală, ceea ce explică creșterea interesului în dezvoltarea sistemelor de cedare dermică și transdermică a acestui medicament.

Obiectivul acestui studiu a constat în dezvoltarea și evaluarea unor geluri hidroetanolic pe bază de hidroxiopropilmetilceluloză (HPMC), conținând clorhidrat de propranolol 3% și diferite terpene (mentol, camfor, timol, eucaliptol și α -bisabolol) ca promotori de absorbție.

Materiale și metode. PRHCl (3%) și terpena (5%) au fost încorporate prin dizolvare în geluri hidroetanolic pe bază de HPMC, obținându-se șase preparate, inclusiv formularea de control fără terpenă. Gelurile hidroetanolic cu PRHCl obținute au fost evaluate în ceea ce privește caracterile macroscopice, conținutul în substanță activă, pH-ul, caracterile reologice și eliberarea *in vitro* a PRHCl prin membrană sintetică hidrofilă, utilizând celule de difuzie Franz.

Adresa de corespondență:

Lavinia Vlaia, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Piața Eftimie Murgu, nr. 2, Timișoara
E-mail: laviniav@umft.ro

Rezultate. Gelurile hidroetanolicе cu PRHCl și terpenе studiate au corespuns prevederilor F.R. X în ceea ce privește aspectul, omogenitatea, conținutul în substanță activă și pH-ul, iar din punct de vedere reologic au prezentat un comportament pseudoplastic tixotrop, cu viscozitate aparentă și consistență (evaluată prin capacitatea de penetrare și cea de etalare) corespunzătoare preparatelor semisolide. Studiul eliberării *in vitro* a PRHCl a condus în toate cazurile, exceptând gelul cu timol, la procente mari de substanță activă cedată după 8 ore (86,03-92,02%), la valori mari ale fluxului în stare staționară (1.075,90-1.760,40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) și ale vitezei de cedare (2.909,50-4.841,90 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}^{1/2}$). Permeația *in vitro* a PRHCl prin membrana sintetică din gelurile hidroetanolicе studiate a fost descrisă cu acuratețe de modelul Korsmeyer-Peppas ($R_2 > 0,86$).

Concluzii. Prezența terpenelor, cu excepția timolului, în gelurile hidroetanolicе pe bază de HPMC cu 3% PRHCl studiate nu a influențat semnificativ caracteristicile lor fizice și eliberarea *in vitro* a substanței active prin membrana sintetică. Rezultatele obținute sugerează faptul că gelurile hidroetanolicе cu terpenе dezvoltate, cu excepția celui cu timol, pot fi utilizate ca vehicule pentru eliberarea topică a PRHCl.

Cuvinte cheie: clorhidrat de propranolol (PRHCl), HPMC, geluri hidroetanolicе, terpenе

ABSTRACT

Propranolol hydrochloride (PRHCl), a non-selective β -adrenergic antagonist of the second generation of β -blockers, is an ideal candidate for percutaneous application, since it has a short half-life and a relatively low systemic bioavailability after oral administration, which explain the growing interest for developing systems delivery for dermal and transdermal delivery of this drug.

The **objective** of this study was to develop and evaluate HPMC-based hydroethanolic gel formulations containing propranolol hydrochloride and different terpenes (menthol, camphor, timol, eucalyptol and α -bisabolol) as penetration enhancers.

Materials and methods. PRHCl (3%) and terpene (5%) were incorporated by dissolution in HPMC-based hydroethanolic gels, obtaining six preparations, including the control formulation with no terpene. The obtained PRHCl hydroethanolic gels were evaluated regarding the macroscopic characteristics, drug content, pH, rheological properties and *in vitro* drug release through hydrophilic synthetic membrane, using Franz diffusion cells.

Results. The studied PRHCl hydroethanolic gels with terpenes complied with pharmacopeial specifications for appearance, homogeneity, drug content and pH, and in terms of rheological properties they exhibited thixotropic pseudoplastic behavior, with apparent viscosity and consistency (evaluated as penetration value and spreadability) suitable for a semi-solid preparation. Moreover, in all cases, excepting the gel with thymol, the *in vitro* PRHCl release study revealed high values of total amount of PRHCl released after 8 hours (86.03-92.02%) and high values of flux and release rate (1,075.90-1,760.40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ and 2,909.50 - 4,841.90 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}^{1/2}$ respectively). The *in vitro* permeation of PRHCl from the studied hydroethanolic gels through synthetic membrane was accurately described by Korsmeyer-Peppas model ($R_2 > 0.86$).

Conclusions. The presence of terpenes, except thymol, in the studied HPMC-based hydroethanolic gels containing PRHCl 3% did not significantly affect their physical characteristics and *in vitro* drug release through synthetic hydrophilic membrane.

The obtained results suggest that all developed hydroethanolic gels containing terpenes, except that with thymol, could be used as vehicles for topical delivery of PRHCl.

Keywords: propranolol hydrochloride (PRHCl), HPMC, hydroethanolic gels, terpenes

INTRODUCERE

Clorhidratul de propranolol (PRHCl), cunoscut ca clorhidrat de 1-izopropilamino-3-(1-naftiloxi)-propan-2-ol, este un betablocant neselectiv larg utilizat în tratamentul hipertensiunii arteriale, aritmiilor cardiace, anginei pectorale și profilactic în

recuperarea după infarct miocardic (1). Mai mult, în ultimii 5 ani, s-a constatat că propranololul administrat oral (2) și topic (3,4) este eficient în tratamentul hemangioamelor infantile. După administrarea orală, PRHCl este rapid și aproape în totalitate (90-100%) absorbit din tractul gastrointestinal, însă prezintă

un timp de înjumătățire scurt (3-6 ore) și o biodisponibilitate sistemică redusă (25-30%), datorită primului pasaj hepatic intens, fiind necesară creșterea frecvenței administrărilor (5). Datorită acestor proprietăți, PRHCl este un candidat ideal pentru aplicare cutanată, explicându-se astfel interesul crescut pentru dezvoltarea

sistemelor de eliberare dermică și transdermică a PRHCl.

În ultimii douăzeci de ani, gelurile în general, și hidrogelurile în particular, au fost intens studiate ca preparate farmaceutice semisolide capabile să asigure o eliberare eficientă a substanței medicamentoase, după administrare orală, rectală, vaginală, oculară, cutanată și subcutanată. Astfel, hidrogelurile au devenit larg utilizate în domeniile biomedicale și farmaceutice, ca sisteme de transport și dispozitive biomedicale datorită biocompatibilității lor, a structurii rețelei și a stabilității moleculare a compusului bioactiv încorporat (6). Hidrogelurile se pot prepara dintr-o varietate largă de materiale, cum ar fi polimerii semisintetici (ex. derivații de celuloză), ale căror aplicații practice sunt în continuă creștere (6). Datorită conținutului crescut în apă, hidrogelurile pot dizolva substanțele medicamentoase hidrosolubile (ex. clorhidrat de propranolol), cu obținerea de geluri apoase, transparente.

Fiind o moleculă cationică, polară, hidrosolubilă, PRHCl prezintă o penetrație percutanată scăzută. Prin urmare, pentru a îmbunătăți permeația PRHCl prin piele, au fost abordate și investigate diferite strategii (7,8). O metodă chimică larg utilizată este co-administrarea de promotori de absorbție, care cresc temporar permeabilitatea stratului cornos. Mai multe clase de promotori de absorbție au fost intens studiate (9). În

ultimele două decade, investigațiile au fost orientate asupra selectării de promotori eficienți și siguri, atât de proveniență naturală, cât și sintetică. Terpenele izolate din produse naturale (ex. uleiurile volatile naturale) și terpenoidele sintetice prezintă interes crescut, datorită potențialului lor scăzut de a produce iritație cutanată și datorită capacității crescute de permeație percutanată la concentrații mici (1-5%). Mentolul și terpenele înrudite au fost testate ca promotori de absorbție a PRHCl din soluții hidrocolooidale și plasturi bioadezivi de tip hidrogeluri (10).

Obiectivul acestui studiu a fost dezvoltarea și evaluarea unor formulări de geluri hidroetanolicе cu diferite terpenе, care să se poată utiliza ca vehicule pentru eliberarea topică a PRHCl. Au fost investigate patru monoterpene (mentol, camfor, eucaliptol și timol) și o sesquiterpenă (α -bisabolol), selectate din diferite clase chimice de alcooli alifatici și aromatici, cetone și eteri. Astfel, au fost formulate și preparate cinci geluri hidroetanolicе cu 3% PRHCl și 5% terpenă pe bază de HPMC, precum și un gel de control (fără terpenă). Controlul calității preparatelor studiate a vizat proprietățile fizico-chimice și capacitatea de eliberare și penetrație *in vitro* a clorhidratului de propranolol prin membrană sintetică hidrofilă.

MATERIALE ȘI METODE

Materiale

Clorhidratul de propranolol a fost donat de S.C. Sintofarm S.A (București, România).

Mentolul, camforul și timolul au fost achiziționate de la Merck KGaA (Germania), iar eucaliptolul și α -bisabololul au fost obținute de la Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Germania).

Hidroxipropilmetilceluloza (Methocel K4M, Colorcon L.t.d., UK) a fost primită ca mostră gratuită. Etanolul (96% V/V), clorura de sodiu, fosfatul disodic și fosfatul monopotasnic au fost achiziționate de la Chimopar S.A. (București, România). Membranele sintetice hidrofile de polisulfonă (0,45 μ m, 25 mm, Tuffryn HT) au fost distribuite de Pall Corporation (SUA). Apa distilată a fost folosită pentru prepararea hidrogelurilor, iar apa bidistilată a fost utilizată la prepararea soluției saline de tampon fosfat pH 7,4. Toți compușii și reactanții folosiți au fost puri din punct de vedere farmaceutic sau analitic.

Metode

1. Prepararea gelurilor hidroetanolicе pe bază de HPMC cu PRHCl

Formulările de geluri hidroetanolicе cu PRHCl dezvoltate în studiul nostru anterior au prezentat compoziția indicată în tabelul 1 (11). Formulările au fost preparate prin încorporarea soluției alcoolice de PRHCl sau a soluției alcoolice de PRHCl și o terpenă în hidrogelul pe bază de HPMC 3% respectiv 2%. PRHCl și terpenele au fost dizolvate în etanol de concentrație 96% (V/V). Baza de hidrogel s-a obținut prin dizolvarea în apă a HPMC, respectând tehnica de preparare „cald/rece” (12). Apoi soluția alcoolică de PRHCl, cu sau fără terpenă, a

TABELUL 1. Compoziția gelurilor hidroetanolicе cu clorhidrat de propranolol 3% și terpenă 5%

Componente	Masa (%) și codurile formulărilor					
	PRHCI-ALC 2	PRHCI-MTL	PRHCI-CMF	PRHCI-TML	PRHCI-ECL	PRHCI-BBL
Clorhidrat de propranolol	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
HPMC	3,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Etanol 96% (m/V)	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0
L-mentol	-	5,0	-	-	-	-
D-camfor	-	-	5,0	-	-	-
Timol	-	-	-	5,0	-	-
Eucaliptol	-	-	-	-	5,0	-
α-bisabolol	-	-	-	-	-	5,0
Apă distilată	34,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0

fost adăugată hidrogelului de HPMC, sub continuă agitare.

Preparatele au fost menținute la 5°C pentru 24 de ore înainte de testare.

2. Controlul calității gelurilor hidroetanolicе cu clorhidrat de propranolol 3% și terpenă 5%

Examenul caracterelor macroscopice vizuale (aspect, consistență, omogenitate), olfactive (miros) și tactile, s-a efectuat conform prevederilor F.R. X la monografia *Unguenta* sau alte monografii (13).

Determinarea conținutului în PRHCI și a pH-ului hidrogelurilor

Determinarea conținutului în substanță activă s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică în UV, conform următorului mod de lucru: s-a cântărit 1 g de hidrogel cu PRHCI într-un vas volumetric de 100 mL și s-a dizolvat în metanol. 1 mL din această soluție a fost diluată corespunzător, iar conținutul în PRHCI a fost analizat spectrofotometric (spectrofotometru UV-VIS T70+, PG Instruments, UK), la lungimea de undă de 290 nm, comparativ cu proba de control, preparată în același mod, folosind hidrogelul fără substanță activă.

pH-ul s-a determinat potențiomtric, conform prevederilor F.R. X, folosind un pH-metru portabil digital (Sension™1, Hach Company, SUA). Peste 5 g hidrogel s-au adăugat 20 mL apă distilată încălzită în prealabil la 37±2°C și s-a agitat energic timp de 1 minut. După răcire, soluția s-a supus filtrării și în filtrat s-a determinat pH-ul. Fiecare determinare a fost realizată în triplicat.

Analiza reologică

Caracterele reologice (viscozitatea, comportamentul reologic) și consistența gelurilor hidroetanolicе cu PRHCI 3% și terpenă ca promotori de absorbție au fost evaluate prin metoda viscozometrică, respectiv prin metoda penetrometrică și extensometrică.

Determinarea caracterelor reologice (testul viscozometric) s-a efectuat cu ajutorul unui reometru rotațional cu control al tensiunii (RheoStress 1, HAAKE, Franța), prevăzut cu o geometrie con-placă (C60/1° Ti) și operând cu o deschidere de 0,052 mm în modulul de oscilație. Datele au fost analizate cu programul HAAKE RheoWin 3 versiunea 1.0. S-a verificat fitarea datelor cu modele matematice specifice:

– modelul legea putere:

$$\tau = K \cdot \gamma^n \quad (1)$$

– modelul Casson:

$$\tau = \sqrt[n]{\tau_0^n + (\gamma \cdot \eta_0)^n} \quad (2)$$

– modelul Herschel-Bulkley:

$$\eta = \tau_0 / \gamma + K\gamma^{n-1} \quad (3)$$

în care τ este tensiunea de forfecare, K denotă indicele de consistență, g este viteza de forfecare, n este indicele de curgere, iar η este viscozitatea.

Determinarea consistenței s-a efectuat conform modului de lucru și în condițiile prevăzute de Ph.Eur., folosind un penetrometru (PNR 12, Petrolab, Germania) cu micro-con și un recipient adecvat. Rezultatele obținute ca medie ± DS, au fost reprezentate grafic sub formă de histogramme. Toate măsurătorile au fost efectuate în triplicat, la 25°C (14).

Capacitatea de etalare a hidrogelurilor s-a determinat cu ajutorul extensometrului Pozo Ojeda-Sune Arbussa (15) și s-au trasat curbele extensometrice corespunzătoare. Toate determinările au fost efectuate în triplicat, la 25°C.

Studiul de cedare in vitro a clorhidratului de propranolol din gelurile hidroetanolicе conținând terpene prin membrană sintetică

Testul de eliberare *in vitro* a PRHCl din gelurile hidroetanolicе prin membrană sintetică hidrofilă a fost efectuat folosind un sistem de 6 celule de difuzie Franz (sistemul Microette-Hanson, model 57-6AS9, Hanson, SUA), cu o suprafață de difuzie de 1,767 cm² și cu un volum al compartimentului receptor de 6,5 mL, precum și un spectrofotometru UV-VIS T70+ cu soft UVWIN5 (PG Instruments, Anglia). În scopul asigurării condițiilor „sink” pe toată durata testării, s-a utilizat ca mediu receptor soluția salină de tampon fosfat (pH 7,4), încălzită și deaerată. În capsula de dozare a fiecărei celule de difuzie s-a cântărit aproximativ 0,300 g probă, peste care s-a aplicat membrana de difuzie, menținută în prealabil timp de 30 minute în mediu receptor. Pe toată durata funcționării, sistemul a fost menținut la temperatura de 32±0,5°C, iar mediul receptor a fost agitat continuu (600 rpm) cu ajutorul unui agitator magnetic pentru a evita efectele stratului de difuzie. Probe de 0,5 mL din mediul receptor au fost prelevate la intervale prestabilite (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 și 8 h) și înlocuite cu un volum egal de mediu receptor proaspăt, pentru menținerea unui volum constant. Probele prelevate au fost analizate spectrofotometric la lungimea de undă 290 nm, corespunzătoare maximului de absorbție al clorhidratului de propranolol în soluția

salină de tampon fosfat. Determinarea a fost liniară în intervalul de concentrație a PRHCl de 10-130 μg/mL ($y = 0,097x$, $R^2 = 0,9998$). Fiecare experiment a fost efectuat în triplicat, iar datele au fost exprimate sub forma valorii medii ± DS.

Analiza rezultatelor studiilor de cedare in vitro

Cantitatea cumulativă de PRHCl care a permeat prin membrană (μg/cm²) a fost reprezentată grafic în funcție de timp (t , h). Viteza de permeație a substanței medicamentoase în stare staționară (fluxul, J_s , μg/cm²/h) și timpul de latență (t_l , h) au fost calculate din panta drepte și respectiv din interceptul la axa x a porțiunii liniare a curbelor cantității cumulative de substanță medicamentoasă care a permeat în funcție de timp în condiții de stare staționară. Coeficientul de permeabilitate (K_p , cm/h) a fost calculat raportând fluxul la concentrația inițială a substanței active în compartimentul donor. Valorile vitezei de eliberare (k) s-au calculat pe baza pantelor curbelor cantității cumulative de substanță medicamentoasă care a permeat prin membrană (μg/cm²) în funcție de rădăcina pătrată a timpului în condiții de stare staționară. Valorile coeficientului de difuzie (D) s-au calculat din valorile vitezei de eliberare.

Pentru a evalua cinetica eliberării PRHCl din gelurile hidroetanolicе conținând terpene, s-a analizat fitarea rezultatelor obținute în studiile de eliberare *in vitro* în diferite modele matematice, după cum urmează:

– modelul de ordin zero:

$$M_t = M_0 + K_0 t \quad (4)$$

în care M_t reprezintă cantitatea de substanță medicamentoasă dizolvată în timpul t , M_0 reprezintă cantitatea inițială de substanță medicamentoasă în soluție (este de obicei zero), K_0 reprezintă constanta de eliberare de ordinul zero exprimată în unități de concentrație/timp, iar t este timpul.

– modelul de ordinul unu:

$$\log C = \log C_0 - K_1 t / 2,303 \quad (5)$$

în care C_0 este concentrația inițială de substanță medicamentoasă, K_1 este constanta de eliberare de ordinul unu, iar t este timpul.

– modelul Higuchi:

$$M = K_H t^{1/2} \quad (6)$$

în care M reprezintă cantitatea de substanță medicamentoasă eliberată la timpul t și K_H este constanta de eliberare Higuchi.

– modelul Korsmeyer-Peppas:

$$M_t / M_\infty = K_p t^n \quad (7)$$

în care M_t / M_∞ reprezintă raportul între cantitatea de substanță eliberată la timpul t , K_p este constanta vitezei de eliberare Korsmeyer-Peppas, iar n este coeficientul de difuzie. În acest caz, au fost analizate datele corespunzătoare eliberării a 60% din cantitatea de substanță medicamentoasă.

S-au trasat următoarele curbe: procentul cumulativ de substanță eliberată versus timp (cinetică de ordinul zero), logaritmul procentului cumulativ de substanță rămasă versus timp (cinetică

de ordinul unu), procentul cumulativ de substanță eliberată versus rădăcina pătrată a timpului (modelul Higuchi) și logaritmul procentului cumulativ de substanță eliberată versus logaritm din timp (modelul Korsmeyer-Peppas).

Analiza statistică a rezultatelor

Analiza statistică a fost realizată cu ajutorul programului Statistica 7.0. Datele au fost prezentate ca medie \pm deviația standard (DS) și au fost considerate semnificative statistic la $P < 0,05$.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Formularea gelurilor hidroetanolic pe bază de HPMC cu PRHCl 3%

În procesul de formulare a gelurilor hidroetanolic cu PRHCl, s-a observat că la aceeași concentrație de polimer (3%, m/m), formulările cu terpenă au prezentat o consistență și viscozitate ușor ridicată față de formularea de control (fără terpenă). Deoarece proprietățile reologice ale gelurilor influențează semnificativ eliberarea substanței active, pentru formulările cu terpenă, concentrația de HPMC a fost redusă la 2% (m/m). În preparatele care au conținut terpenă, etanolul a fost

utilizat în concentrație de 60% (m/m) ca și co-solvent pentru terpenă, având în vedere că acești compuși puternic lipofili, în special α -bisabololul, prezintă o solubilitate redusă în apă, atunci când cantitățile de alcool sunt mai mici de 60% (9). Pe de altă parte, este cunoscut faptul că etanolul și terpenele prezintă efecte de sinergism (acționând ca promotori de absorbție) atunci când sunt folosiți împreună (16).

Controlul calității gelurilor hidroetanolic cu clorhidrat de propranolol 3%

Examenul caracterelor macroscopice

Hidrogelurile obținute au fost omogene, incolore, transparente și translucide, încadrându-se în prevederile F.R. X în ceea ce privește aspectul și omogenitatea.

Determinarea conținutului în PRHCl și a pH-ului gelurilor hidroetanolic

Conținutul în PRHCl al gelurilor formulate a variat între $97,85 \pm 0,63\%$ și $102,47 \pm 0,54\%$ din valoarea teoretică (3%, m/m) (Tabelul 2), fiind în concordanță cu specificațiile farmacopeei pentru conținutul în substanță activă. Rezultatele obținute au indicat distribuția uniformă a substanței medicamentoase în gelurile hidroetanolic studiate.

Rezultatele obținute în urma determinării pH-ului gelurilor hidroalcolice cu PRHCl 3% și terpenă 5%, la preparare, sunt prezentate în Tabelul 2. S-a constatat că pH-ul gelurilor hidroalcolice studiate s-a încadrat în limitele impuse de F.R. X (*Unguenta*), fiind cuprins între $6,55 \pm 0,49$ și $8,33 \pm 0,20$. De asemenea, se poate observa că gelul cu timol a prezentat cea mai mică valoare a pH-ului (slab acid), urmat de cel cu camfor (neutru), iar pentru celelalte s-au măsurat valori mai mari ale pH-ului (slab alcalin). Diferențele observate între preparatele privind valorile pH-ului au fost datorate, cel mai probabil, structurii chimice diferite a terpenelor studiate, mai precis capacității de a ceda sau accepta protoni, determinată de tipul grupării funcționale (alcool, eter, fenol, cetonă) și de entitatea structurală pe care este greafată gruparea respectivă.

Analiza reologică

În Figura 1 sunt prezentate grafic doar câteva dintre rezultatele testării viscozimetrice a preparatelor studiate, deoarece încorporarea unei terpenă sau a unui amestec de terpenă în hidrogelul de control (formularea PRHCl-ALC 2), nu a determinat modificări importante ale proprietăților sale reologice.

Astfel, toate gelurile hidroalcolice studiate au prezentat un comportament pseudoplastic tixotrop (tixotropie mai pronunțată în cazul formulărilor PRHCl-MTL, PRHCl-CMF și PRHCl-BBL). În plus, similar gelului de control fără terpenă

TABELUL 2. Conținutul în substanță activă, pH-ul, viscozitatea aparentă și gradul de penetrare al gelurilor hidroetanolic cu PRHCl studiate

Codul formulării	Conținutul în substanță activă (%)	pH	Viscozitate aparentă (Pas)	Grad de penetrare (mm)
PRHCl-ALC 2	100,36 \pm 0,38	7,28 \pm 0,13	20,33 \pm 0,58	236,0 \pm 4,32
PRHCl-MTL	97,85 \pm 0,63	8,02 \pm 0,01	28,34 \pm 0,98	174,0 \pm 3,74
PRHCl-CMF	98,09 \pm 0,50	7,03 \pm 0,12	59,36 \pm 1,23	187,67 \pm 2,05
PRHCl-ECL	101,72 \pm 0,45	8,19 \pm 0,07	17,70 \pm 0,73	204,25 \pm 2,05
PRHCl-TML	99,95 \pm 0,68	6,55 \pm 0,49	3,34 \pm 0,70	352,67 \pm 1,24
PRHCl-BBL	102,47 \pm 0,56	8,33 \pm 0,20	23,72 \pm 1,14	212,0 \pm 2,94

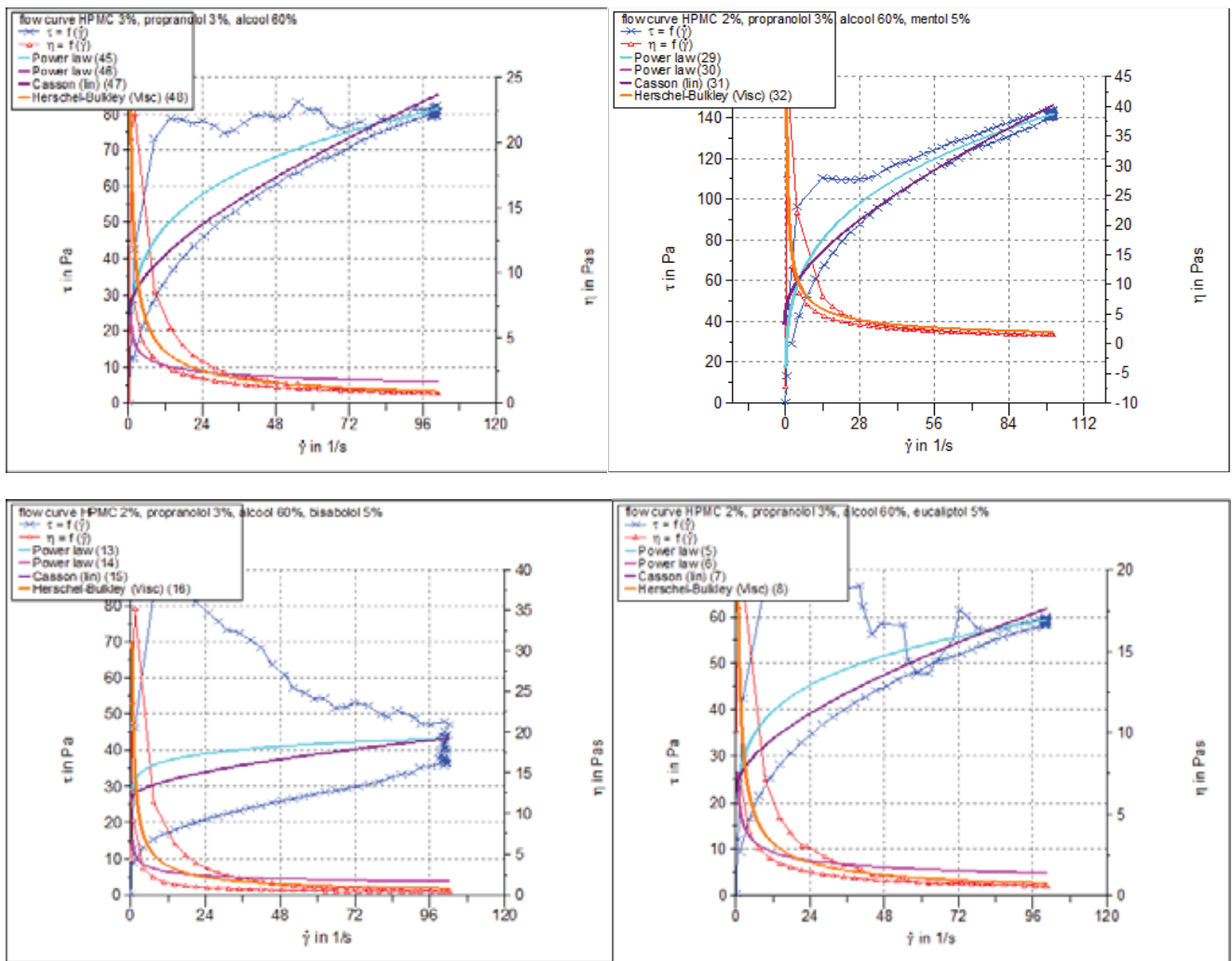


FIGURA 1. Curbele de curgere și curbele de viscozitate ale unor geluri hidroalcoolice cu clorhidrat de propranolol studiate

(formularea PRHCl-ALC 2), curbele de curgere ale gelurilor cu terpene au prezentat pe porțiunea descendentă sinuoșități, cu excepția formulărilor PRHCl-MTL și PRHCl-TML. În consecință, și rezultatele analizei regresionale a comportamentului reologic (fitarea cu modelele reologice „legea putere“ și Casson) au fost mai slabe („legea putere“ $0,40 < R < 0,80$; modelul Casson $0,20 < R < 0,80$) în cazul sistemelor prezentând o curgere complexă. În schimb, modelele reologice utilizate au descris cu mare acuratețe curgerea gelurilor PRHCl-MTL și PRHCl-TML, fapt indicat de valorile mari ale coeficienților de corelare ($R > 0,90$).

Alura curbilor de viscozitate obținute a indicat faptul că valoarea acestui parametru a scăzut odată cu creșterea vitezei de deformare, iar modelarea curbilor viscozității cu ecuația Herschel-Bulkley a condus la valori mari ale coeficientului de corelare ($R > 0,80$).

Valorile viscozității aparente a hidrogelurilor, obținute în urma testului viscozimetrie, sunt listate în Tabelul 2. Se poate observa că formularea cu camfor a prezentat cea mai mare viscozitate, fiind urmată de formulările PRHCl-MTL, PRHCl-BBL și PRHCl-ECL, a căror viscozitate a fost de 2 ori, de 2,5 ori respectiv de 3,4 ori mai mică. Spre

deosebire de acestea, gelul cu timol a prezentat cea mai scăzută viscozitate. De asemenea, se poate observa că au existat diferențe de viscozitate și față de gelul de control: α -bisabololul, mentolul și în special camforul au determinat creșterea viscozității, iar eucaliptolul și timolul scăderea acesteia. Variațiile valorilor viscozității atestă influența structurii chimice a terpenelor studiate asupra caracterelor reologice ale preparatelor studiate.

Pe baza rezultatelor măsurătorilor penetrometrice (Tabelul 2) și extensimetrice (Fig. 2), gelurile studiate pot fi ierarhizate în funcție de

consistență după cum urmează: $PRHCl-TML > PRHCl-ALC 2 > PRHCl-BBL > PRHCl-ECL > PRHCl-CMF > PRHCl-MTL$. Această ierarhizare evidențiază efectele terpenelor studiate asupra consistenței gelurilor analizate. De asemenea, se constată că rezultatele obținute în cadrul testului penetrometric au fost în concordanță cu cele obținute în urma determinării capacității de etalare. Valorile penetrometrice și extensometrice obținute se încadrează în domeniul specific preparatelor semisolide, fapt ce atestă consistența corespunzătoare a tuturor gelurilor hidroetanolic studiate.

Studiul de cedare in vitro a clorhidratului de propranolol din gelurile hidroetanolic conținând terpen prin membrană sintetică

În scopul studierii influenței terpenelor asupra capacității bazei de unguent (gelul hidroalcoolic pe bază de HPMC) de a elibera clorhidratul de propranolol, toate cele 6 preparate (cu sau fără terpenă) au fost testate *in vitro* privind eliberarea

substanței medicamentoase prin membrană sintetică hidrofilă. Rezultatele acestui test sunt prezentate grafic în Figura 3, iar valorile parametrilor specifici eliberării (viteza de eliberare, k , coeficientul de difuzie, D) și permeației PRHCl (fluxul în stare staționară, J_{ss} , coeficientul de permeabilitate, K_p și timpul de latență, t_l) prin membrană, calculate pe baza acestor date, sunt listate în Tabelul 3.

Dintre gelurile cu terpenă 5% studiate, formularea cu mentol a eliberat cea mai mare cantitate de substanță medicamentoasă ($92,02 \pm 0,58\%$) după 6 ore, urmată îndeaproape de formularea cu camfor, pentru care procentul maxim de substanță activă cedată ($89,62 \pm 0,87\%$) s-a măsurat după 5 ore. De asemenea, gelul cu eucaliptol a cedat o cantitate cumulativă maximă de PRHCl de $86,03 \pm 0,43\%$, tot după 5 ore de testare. Cea mai scăzută cantitate de substanță eliberată s-a măsurat în cazul gelului cu timol ($41,25 \pm 0,66\%$) la sfârșitul perioadei de testare (Fig. 3a).

Comparativ cu valoarea procentului cumulativ maxim de substanță activă eliberată din gelul de control ($PRHCl-ALC 2$), formulările $PRHCl-MTL$, $PRHCl-CMF$ și $PRHCl-ECL$ au condus la valori ușor mai crescute, formularea $PRHCl-BBL$ a prezentat o valoare ușor mai scăzută ($81,47 \pm 0,82\%$), în timp ce formularea $PRHCl-TML$ a condus la o valoare de aproximativ două ori mai mică (Fig. 3a). În consecință, se poate considera că prezența terpenelor studiate, cu excepția timolului, nu a afectat semnificativ capacitatea gelului hidroetanolic de a elibera clorhidratul de propranolol prin membrana sintetică. Diferențele mici dintre formulări privind cedarea substanței active pot fi datorate efectului combinat al unor factori dependenți de proprietățile fizico-chimice ale substanței medicamentoase și ale bazei de unguent (proprietățile reologice, afinitatea PRHCl pentru bază, corelată cu solubilitatea sa în baza de unguent).

Curbele cantității cumulative de PRHCl care a permeat pe unitatea de suprafață a membranei în funcție de timp (Fig. 3b) au prezentat o porțiune liniară înainte de atingerea stării staționare. Se poate observa că toate preparatele studiate, cu excepția gelului cu timol, au determinat un transfer crescut și rapid de substanță activă în primele trei ore de testare. Cele mai mari valori ale fluxului în stare staționară și ale vitezei de eliberare a PRHCl s-au obținut pentru formulările cu camfor, mentol și eucaliptol (Tab. 3). Totuși, creșterea

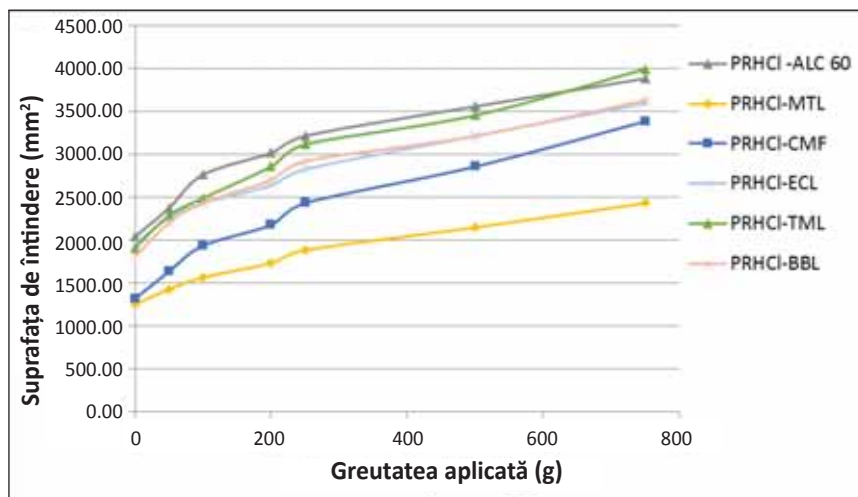
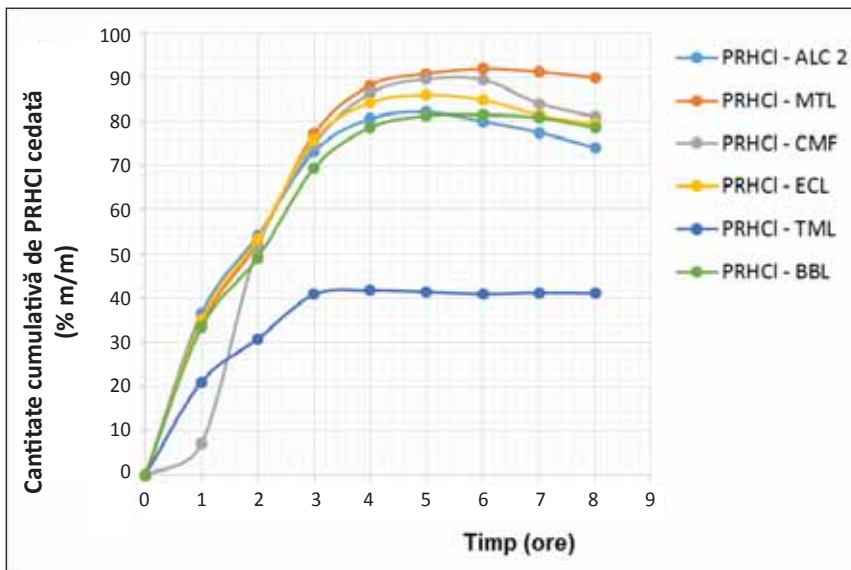
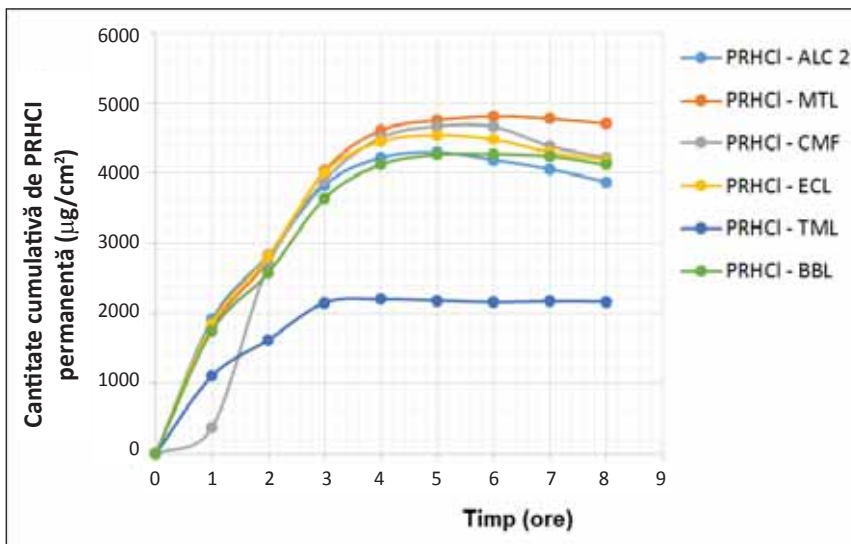


FIGURA 2. Influența terpenelor asupra consistenței gelurilor hidroalcoolice, evaluată prin capacitatea de întindere



(a)



(b)

FIGURA 3. Profilurile eliberării (a) și permeației (b) *in vitro* a clorhidratului de propranolol din gelurile hidroalcoolice studiate prin membrană sintetică

TABELUL 3. Parametrii specifici permeației și eliberării clorhidratului de propranolol din gelurile hidroetanolic studiate prin membrană sintetică hidrofیلă

Codul formulării	Parametrii permeației			Parametrii eliberării	
	J_{ss} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	$K_p \times 10^{-6}$ (cm/h)	t_L (h)	k ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}^{1/2}$)	$D \times 10^{-3}$ (cm^2/h)
PRHCl-ALC 2	$958,07 \pm 0,91$	319,36	-	$2154,70 \pm 1,09$	4,05
PRHCl-MTL	$1121,40 \pm 1,25$	373,80	-	$2927,30 \pm 0,96$	7,47
PRHCl-CMF	$1760,40 \pm 0,67$	586,80	$0,68 \pm 0,54$	$4841,90 \pm 0,46$	20,45
PRHCl-ECL	$1075,90 \pm 1,34$	358,63	-	$2909,50 \pm 1,02$	7,38
PRHCl-TML	$520,06 \pm 0,92$	173,35	-	$1411,60 \pm 0,91$	1,74
PRHCl-BBL	$943,70 \pm 2,15$	314,57	-	$2023,80 \pm 1,71$	3,57

fluxului și vitezei de eliberare a substanței active din aceste preparate față de control a fost modestă (de 1,12 ori până la 1,84 ori). În schimb, viteza de transfer și eliberare

a PRHCl din formularea PRHCl-BBL a fost aproximativ egală cu cea obținută pentru gelul de control (Tabelul 3). Gelul cu timol a condus la obținerea celor mai mici

valori ale parametrilor specifici permeației și eliberării PRHCl prin membrana sintetică.

Este de remarcat faptul că preparatul având în compoziție camfor a prezentat un scurt timp de latență (Tabelul 3), care poate fi datorat fie viscozității crescute a gelului, fie prezenței acestei terpenoide în formulare.

Viteza de eliberare a clorhidratului de propranolol din formulările studiate prin membrana sintetică a prezentat valori mult mai mari decât fluxul în stare staționară, ceea ce atestă faptul că permeația substanței prin membrană nu depinde de eliberarea sa din preparate.

În scopul predicției și evaluării cinetice de cedare a PRHCl din gelurile hidroetanolic studiate prin membrana sintetică hidrofیلă, s-a realizat fitarea cu un model matematic adecvat. Datele obținute la testarea gelurilor cu PRHCl 3% privind permeația *in vitro* a substanței medicamentoase au fost fitate cu câteva modele matematice reprezentative pentru formele farmaceutice semisolid ca modelul de ordin zero, modelul de ordin unu, modelul Higuchi și modelul Korsmeyer-Peppas. Rezultatele fitării curbelor cu modelele menționate mai sus au fost evaluate prin cea mai mare valoare a coeficientului de corelare și sunt prezentate în Tabelul 4.

Analiza comparativă a valorilor coeficienților de corelare conduce la concluzia că cinetica eliberării PRHCl din toate gelurile

TABELUL 4. Rezultatele analizei cinetice a datelor de permeație *in vitro* prin membrană sintetică obținute pentru hidrogelurile cu PRHCl studiate

Cod formulare	Ordin zero		Ordin unu		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	K_0 ($\mu\text{g}/\text{h}$)	R^2	K_1 (h^{-1})	R^2	K_H ($\text{h}^{-0.5}$)	R^2	K_p (h^{-n})	n	R^2
PRHCl-ALC 2	7,9932	0,6245	0,1763	0,6409	33,204	0,8246	1,575	0,5325	0,9712
PRHCl-MTL	10,387	0,7518	0,3292	0,8468	37,325	0,9182	1,5417	0,6445	0,9762
PRHCl-CMF	10,759	0,6891	0,2650	0,6737	34,836	0,8232	1,0192	1,5576	0,8671
PRHCl-ECL	8,8208	0,6621	0,2144	0,6786	34,755	0,8551	1,5571	0,5914	0,9700
PRHCl-TML	4,0965	0,6133	0,0555	0,6433	17,708	0,8113	1,3460	0,4487	0,9255
PRHCl-BBL	8,8810	0,7244	0,2069	0,7961	33,283	0,9035	1,5294	0,5854	0,9785

hidroetanolică cu terpenă a fost descrisă cu acuratețe de modelul cinetic Korsmeyer-Peppas. Mai mult, pe baza valorilor coeficientului de difuzie, n , care au variat în intervalul 0,4487-1,5576, se poate stabili mecanismul de difuzie. Astfel, valorile acestui coeficient au fost mai mici de 0,89 pentru 4 preparate (gelul de control și gelurile cu mentol, eucaliptol sau α -bisabolol), indicând un mecanism de transport non-Fickian, bazat pe difuzia substanței active în matrița hidratată și relaxarea polimerului. Gelul hidroetanolice conținând camfor a condus la $n > 0,89$, ceea ce susține un mecanism de difuzie de tip super caz II, datorat efectului combinat al difuziei substanței și relaxării/dizolvării polimerului hidrofil. Cea mai mică valoare a coeficientului de difuzie s-a obținut pentru gelul cu timol ($n \leq 0,45$), din care PRHCl a difuzat printr-un mecanism Fickian,

conform unui gradient de concentrație.

CONCLUZII

În acest studiu, au fost dezvoltate și evaluate cinci geluri hidroetanolică pe bază de HPMC, conținând 3% clorhidrat de propranolol și 5% terpenă (mentol, camfor, eucaliptol, timol sau α -bisabolol) cu rol de promotor de absorbție, ca potențiale sisteme de eliberare topică a PRHCl, substanță medicamentoasă hidrofilă prezentând un efect intens al primului pasaj hepatic și un timp de înjumătățire scurt după administrare orală, dar și o penetrație percutanată redusă. Rezultatele studiului au subliniat că prezența terpenelor în gelurile hidroetanolică, cu excepția timolului, nu a influențat în mare măsură caracteristicile fizice, reologice și de cedare *in vitro* a substanței medicamentoase.

Pe baza rezultatelor testelor de control al calității și studiului de eliberare *in vitro* a PRHCl, se poate considera că toate gelurile hidroetanolică studiate, exceptând cel cu timol, pot fi utilizate ca vehicule pentru administrarea topică a clorhidratului de propranolol, întrucât au prezentat capacitate mare de eliberare a substanței medicamentoase, evidențiată prin valorile mari ale fluxului în stare staționară (943,70 - 1760,40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) și ale vitezei de cedare (2023,80 - 4841,90 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}^{1/2}$). De asemenea, aceste geluri au prezentat și caracteristici fizice și reologice adecvate.

Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare *in vitro* și *in vivo* pentru determinarea stabilității, siguranței și eficienței terapeutice în vederea dezvoltării unor preparate topice comerciale fiabile cu clorhidrat de propranolol.

BIBLIOGRAFIE

1. Wodlinger A.M. Cardiovascular Drugs in Troy DB, Beringer P (eds.). Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2006, 1355
2. Léauté-Labrèze C., Dumas de la Roque E., Hubiche T., Boralevi F., Thambo J.B., Taïeb A. Propranolol for severe hemangiomas of infancy. *N Engl J Med.* 2008; 358(24):2649-51
3. Bonifazi E., Mazzotta F., Colonna V., De Leo E., Milano A. Topical propranolol in the superficial infantile hemangiomas of the skin. *Eur J Pediatr Dermatol.* 2010, 20: 247-51

4. **Kunzi-Rapp K.** Topical propranolol therapy for infantile hemangiomas. *Pediatr Dermatol.* 2012;29(2):154-9
 5. **Riddell J.G., Harron D.W.G., Shanks R.G.** Clinical pharmacokinetics of P- adrenoceptor antagonists, An update. *Clin Pharmacokinet.* 1987;12:305-20
 6. **Blanco M.D., Olmo R.M., Teijón J.M.** Hydrogels In Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, vol. 3. Informa Healthcare, New York. 2007:2021-39
 7. **Mishra D., Garg M., Dubey V., Jain S., Jain N.K.** Elastic liposomes mediated transdermal delivery of an anti-hypertensive agent: propranolol hydrochloride. *J Pharm Sci.* 2007;96:145-55
 8. **Costa-Balogh F.O., Sparr E., Sousa J.J.S., Pais A.C.** Drug release and skin permeation from lipid liquid crystalline phases. *Progr Colloid Polym Sci.* 2008;135:119-29
 9. **Lane ME.** Skin penetration enhancers. *Int J Pharm Sci.* 2013;447:12-21.
 10. **Cui Y., Li L., Zhang L., Li J., Gu J., Gong H., Guo P., Tong W.** Enhancement and Mechanism of Transdermal Absorption of Terpene-Induced Propranolol Hydrochloride. *Arch Pharm Res.* 2011;34(9):1477-85
 11. **Vlaia L., Olariu I., Coneac G.H., Vlaia V., Popoiu C., Stănculescu C., Muț A.M., Szabadai Z., Lupuleasa D.** Percutaneous penetration enhancement of propranolol hydrochloride from HPMC-based hydroethanolic gels containing terpenes. *Farmacia.* 2014; 62(5):991-1008
 12. ***METHOCEL Cellulose Ethers Technical Handbook. Dow Chemical Company. 2002, 1-29
 13. *** Farmacopeea Română ediția a X-a. Ed. Medicală, București, 1993
 14. European Pharmacopeia. Directorate for the quality of Medicines & Healthcare of the Council of Europe, Strasburg, 6th edition, 2007; Vol. 1: pp.266-275
 15. **Popa E.A., Popovici I., Braha S.L.** Forme farmaceutice bioadezive, cap. XXIX. In Popovici I, Lupuleasa D (ed.). Tehnologie farmaceutică, vol. 2. Iași: Polirom, 2008, 742-49
 16. **Williams A.C., Barry B.W.** Penetration enhancers. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012; 64:128-37
-