

TERMOWRAŻLIWE POLIMERY W TECHNOLOGII POSTACI LEKU

II. MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA POLIMERÓW TERMOWRAŻLIWYCH JAKO NOŚNIKÓW SUBSTANCJI LECZNICZEJ

Janusz Pluta, Bożena Karolewicz

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Akademia Medyczna
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Streszczenie

W tej części przeglądu opisano możliwości wykorzystania polimerów termowrażliwych w opracowaniu nośników substancji leczniczych, podawanych różnymi drogami tj. na drodze doustnej, doodbytniczej, w postaciach podawanych pozajelitowo, aplikowanych na skórę, błony śluzowe, czy w postaciach ocznych. Zastosowanie polimerów termowrażliwych w opracowywaniu nowych postaci leku, pozwala na wykorzystanie ich właściwości żelowania poniżej lub w zakresie temperatury fizjologicznej. Umożliwia to podanie nośnika substancji leczniczej w formie płynnej czy półstałej, a po aplikacji w miejscu działania przejście w formę stałą - sprężystą.

Dzięki możliwości żelowania w określonej temperaturze, w literaturze funkcjonuje określenie dla tych postaci leku - *thermosensitive drug delivery*. Podanie takich form leku pozwala na wydłużenie czasu kontaktu substancji leczniczej z miejscem aplikacji i umożliwia uzyskanie jej przedłużonego uwalniania, często przy jednoczesnej redukcji podawanej dawki.

Słowa kluczowe: termowrażliwe nośniki leku, przemiana fazowa żol-żel

Thermosensitive polymers in drug form technology

II. Possibilities of use of thermosensitive polymers as active substance carriers

Summary

Thermosensitive drug delivery can be used as substances carriers, which are applied in oral system, vaginal systems of release, applied on skin, the rectal, nasal, passed to eyes and parenteral. Sol-gel transition of the prepared formulations at physiological temperature ranges of the body makes possible their application in the liquid state and subsequent gelification *in situ* providing a prolonged release of the active substance at the application site.

Key words: thermosensitive drug carriers, sol-gel transition temperature

NOŚNIKI LEKU KONSTRUOWANE NA BAZIE TERMOWRAŻLIWYCH POLIMERÓW

W ciągu ostatnich piętnastu lat, w związku z opracowaniem nowych metod syntezy i zbadaniem właściwości wielu polimerów, wzrosło zainteresowanie nośnikami substancji leczniczych, otrzymanych na bazie termowrażliwych związków wielkocząsteczkowych [1, 2]. Postacie leku oparte na termolabilnych polimerach mogą być stosowane do konstruowania nowych systemów dostarczania leków podawanych doustnie, doodbytniczo, parenteralnie, oraz preparatów aplikowanych na skórę, błony śluzowe i powierzchnię gałki ocznej [2-5].

Nośniki podawane doustnie

Potts i wsp. w swoich badaniach udowodnili, iż żel otrzymany *in situ* z kopolimerów kwasu poliakrylowego i poloksameru miał przedłużony kontakt ze śluzówką przełyku i istnieje możliwość wykorzystania go do opracowania nośnika dla substancji leczniczych, stosowanych w terapii refluksu żołądkowo-przełykowego [2].

Miyazaki i wsp. użyli innego polimeru - ksyloglukanu, do konstruowania postaci dla cymetydyny. W badaniach *in vitro*, cymetydyna uwalniała się z tego nośnika przez około 6 godzin z kinetyką proporcjonalną do pierwiastka z czasu. Poziom leku w osoczu po aplikacji

in vivo królikom półstałej formulacji ksyloglukanowej tworzącej w żołądku żel, był porównywalny do stężenia tej substancji osiąganego po podaniu gotowej zawiesiny zawierającej takie samo stężenie leku, a otrzymanej z wykorzystaniem alginianu [6]. Systemy opracowane na bazie ksyloglukanu były także stosowane do otrzymywania powstających *in situ* doustnych nośników dla indometacyny, diltazemu, czy teofiliny [2, 7]. Kawasaki i wsp. zaobserwowali w badaniach na szczurach i królikach, iż indometacyna i diltazem uwalniały się z ksyloglukanowych formujących w żołądku żel układów w sposób przedłużony. Po podaniu *in vivo* wodnych formulacji zawierających 1,0 i 1,5% ksyloglukanu, osiągnięty po 2 godzinach stały poziom indometacyny w osoczu utrzymywał się przez około 7 godzin.

Biodostępność indometacyny z uzyskanych żeli była trzykrotnie wyższa, w porównaniu do podania tej substancji w zawiesinie. Istotny wzrost biodostępności wybranego leku, przemawia za wykorzystaniem otrzymanych układów jako nośników dla substancji podawanych *per os* [8]. Biodostępność teofiliny była o około 1,7–2,5 razy większa po podaniu jej w termowrażliwym nośniku, w porównaniu do dostępnych na rynku postaci płynnych [2] (tab. 1).

Serres i wsp. oraz Ramkissoon-Ganorkar i wsp. zsyntetyzowali kopolimer poli-N-izopropylakrylamidu z butylometakrylanem i kwasem akrylowym P(NIPAM-co-BMAco-AAC) [5]. Kopolimer ten był stosowany do otrzymywania nośników podawanych doustnie zawierających kalcytoninę i insulinę. Wymienione peptydy były immobilizowane w polimerowych mikrosferach, zachowujących stabilność podczas pasażu przez żołądek. W alkalicznym środowisku jelit, sfery te ulegały dezintegracji i uwalniały substancję leczniczą. Kim i wsp. otrzymali na bazie poli(N-izopropylakrylamido-co-butylometakrylano-co-kwasu akrylowego) system do uwalniania kalcytoniny podawanej doustnie w terapii osteoporozy i hiperkalcemii [9]. Polipeptyd rozpuszczono w roztworze polimeru oziębionym do temperatury poniżej LCST. Następnie tak otrzymany roztwór ogrzewano do temperatury powyżej LCST, w wyniku czego polimer precypitował w formie mikrosfer zawierających polipeptyd. Taką samą technikę wykorzystano dla otrzymania mikrosfer z insuliną.

Nośniki podawane doodbytniczo i dopochowo

Konwencjonalne czopki stosowane doodbytniczo są w temperaturze pokojowej ciałami stałymi, topiącymi się lub rozpuszczającymi w temperaturze ciała ludzkiego. Zasadniczym problemem w stosowaniu tego rodzaju postaci leku jest fakt, iż są one niezdolne do pozostawania po aplikacji w określonym miejscu odbytnicy, co wiąże się z

niekontrolowanym rozprowadzaniem substancji leczniczych i jest powodem różnej ich dostępności biologicznej. W tym kontekście żele powstające *in situ*, zwane ciekłymi czopkami, mogą być pomocne w rozwiązaniu wymienionych problemów. Posiadają one bowiem zdolność bioadhezji do błony śluzowej odbytnicy, co zapewnia im przedłużone przyleganie leku do błony śluzowej i tym samym umożliwia uzyskanie przedłużonego działania substancji leczniczych.

Badania *in vivo* dostępności biologicznej indometacyny po podaniu doodbytniczym układów ksyloglukanowych u królików pozwoliły stwierdzić, iż w odróżnieniu od konwencjonalnych czopków stężenie leku we krwi po aplikacji termowrażliwych formułacji utrzymywało się na stałym poziomie przez dłuższy czas [2].

Park i wsp. opisali tworzące bioadhezyjne żele w temperaturze ciała doodbytnicze nośniki otrzymane z poloksameru z dodatkiem chlorku sodu. Zaobserwowano prostoliniową zależność pomiędzy ilością uwolnionej z otrzymanych żeli u szczurów soli sodowej diklofenaku, a pierwiastkiem kwadratowym z czasu uwalniania [10].

Początkowe stężenie substancji w osoczu po podaniu doodbytniczym formułacji zawierającej sól sodową diklofenaku, poloksamer 407, poloksamer 188 i chlorek sodu (w stężeniu odpowiednio 2,5/15/17/0,8%) było wyższe i porównywane z uzyskanym po wprowadzeniu czopków. Ponadto czas, po którym uzyskano maksymalne stężenie diklofenaku we krwi był krótszy po podaniu opracowanego nośnika, w porównaniu do wcześniej badanych czopków. Podanie soli sodowej diklofenaku w poloksamerowym żelu umożliwia jej szybszą absorpcję i nie powoduje zmian morfologicznych w obrębie tkanek odbytnicy.

Wyniki te sugerują, iż poloksamerowy żel może być - w porównaniu do konwencjonalnych czopków - bardziej efektywnym i bezpiecznym nośnikiem dla niesteroidowych leków przeciwzapalnych [10].

Na bazie ksyloglukanu otrzymano także doodbytniczy nośnik mitomycyny [2]. Utrzymanie wysokiego stężenia mitomycyny w miejscu zmiany patologicznej po doodbytniczej aplikacji cytostatyku w roztworze jest trudne, ze względu na jej szybkie przechodzenie do osocza. Po doodbytniczym podaniu szczurom termowrażliwego nośnika cytostatyku, Suisha i wsp. odnotowali zmniejszone przenikanie mitomycyny poza odbytnicę, co przyczyniło się do osiągnięcia wyższego stężenia dostępnego leku w jamie odbytnicy i korzystnego zmniejszenia jej stężenia w surowicy (ryc. 1) [11].

Doodbytnicze formułacje zawierające 2% propranololu, były otrzymywane z

dotądkiem mukoadhezyjnych polimerów: hydroksypopylocelulozy, polikarbofilu, poliwinylpopyrolidonu i alginianu sodowego (0,6%) oraz termowrażliwych polimerów: poloksameru 407 (15%) i poloksameru 188 (15%). Czopki otrzymane z wymienionych związków wielkocząsteczkowych, w zależności od rodzaju mukoadhezyjnego polimeru posiadały zróżnicowane właściwości. Temperatura żelowania tych nośników mieściła się w granicach 30-36°C, a biodostępność propranololu w zależności od składu formuacji, przyjmowała wartości w zakresie 60,9-84,7%. Największą dostępność biologiczną propranololu uzyskano z formuacji z dodatkiem alginianu sodu i polikarbofilu (84,7 i 82,3%).

Dodatkową zaletą wykorzystania alginianu sodu do otrzymywania doodbytniczych nośników leku jest fakt, iż w przeciwieństwie do innych polimerów nie powoduje on podrażnienia błony śluzowej odbytnicy. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, iż czopki otrzymane z alginianu sodu z dodatkiem poloksameru mogą być stosowane jako nośniki dla substancji, ulegających metabolizmowi pierwszego przejścia [12].

Hoffman i wsp. otrzymali termowrażliwe nośniki substancji leczniczej na bazie kopolimeru kwasu poliakrylowego i poloksameru (PAA-g-poloksamer i poloksamer-g-PAA). 0,5-3% roztwory tych polimerów tworzyły przezroczyste żele w pH 7,4, przy wzroście temperatury do około 37°C. Dostępność biologiczna estradiolu po dopochwowym podaniu formuacji uzyskanej na bazie opisanych polimerów, była podobna do obecnego na rynku preparatu gotowego - kremu Estrace[®], zawierającego pięciokrotnie wyższe stężenie substancji leczniczej [2].

Termoodwracalny żel otrzymany z polioksypopylenu i polioksyetylenu w buforze cytrynianowym (pH 4,0), posiadał temperaturę przejścia fazowego w zakresie 28°-29°C. Udowodniono, iż może on być stosowany jako podłoże do uwalniania substancji bakteriobójczych, takich jak laurylosiarczan czy n-laurylosarkozyna, podawanych w terapii wirusa opryszczki typu 2 u myszy. W innych badaniach stwierdzono, iż duża zdolność buforowania opisanego termowrażliwego żelu, może mieć synergistyczne działanie z solą sodową laurylosiarczanu w hamowaniu ruchliwości plemników. W związku z czym, żel ten może być z dużą skutecznością stosowany jako miejscowy, dopochwowy środek antykoncepcyjny [12-14].

W innym opisanym przypadku wolny lub skompleksowany z β -cyclodekstryną klotrimazol (1%) był podawany w dopochwowym termowrażliwym żelu, uzyskany na bazie 20% Pluronic[®] F127 w połączeniu z mukoadhezyjnymi polimerami: 0,2% Carbopolem 934 i 0,2% hydroksypopylometylocelulozą. Udowodniono, iż kompleksowanie klotrimazolu z

cyclodekstryną powodowało spadek uwalniania substancji w stosunku do formulacji, w których klotrimazol występował w postaci wolnej substancji. Żelowanie uzyskanych formulacji *in situ* miało miejsce tylko dla układów, zawierających substancję skompleksowaną z cyklodekstryną [15].

Zwiększenie efektywności leczenia kandydozy pochwy stało się również możliwe, dzięki podawaniu klotrimazolu w mukoadhezyjnym termowrażliwym żelu (mucoadhesive thermosensitive gels - MTG), otrzymywanym z Pluroniku 407 (P407), Pluroniku 188 (P188) i polikarbofilu (PC) w stężeniach odpowiednio: 15%/15%/0,2% i 15%/20%/0,2%. Formulacja pierwsza otrzymana z 15% Pluronikiem 188 ulegała żelowaniu w wyższej temperaturze. W badaniach uwalniania klotrimazolu z proponowanych formulacji, w ciągu 8 godzin uwolniło się ponad 60% substancji. Przeciwwgrzybicza aktywność klotrimazolu, określana względem *Candida albicans in vivo* u samic szczurów, była znacznie przedłużona po podaniu uzyskanych mukoadhezyjnych termowrażliwych żeli w stosunku do innych postaci leku. Waginalne podanie klotrimazolu w żelu poprawiało także skuteczność terapii bez uszkadzającego działania na błonę śluzową pochwy.

Te wyniki wskazują na to, iż żele te mogą być wykorzystywane do bezpiecznego, wygodnego i efektywnego leczenia kandydozy pochwy przy wydłużeniu odstępów dawkowania [16].

Parenteralne nośniki leków

Chen i wsp. opisali nośnik otrzymany w oparciu o PLGA-PEG-PLGA, z którego po wstrzyknięciu w sposób kontrolowany przez 4 tygodnie uwalniał się lizozym. Autorzy stwierdzili, iż wzrost stężenia i długości łańcucha kopolimeru zastosowanego do opracowania tych układów powodował spadek szybkości uwalniania białka [17]. Nośnik opracowany z wykorzystaniem opisanego kopolimeru z dodatkiem benzoesu benzylu i alkoholu benzylowego, wykorzystano także do podawania testosteronu. Uwalnianie wymienionej substancji z uzyskanych formulacji przebiegało z kinetyką zbliżoną do zerowego rzędu, a 15% dodatek alkoholu benzylowego do układu powodował wzrost dostępności farmaceutycznej testosteronu [18].

Veyries i wsp. przygotowali 25% roztwory pluroniku, które po wstrzyknięciu ulegały przemianie w żel pod wpływem wzrostu temperatury. W nośniku tym podawano wankomycynę, antybiotyk stosowany w ciężkich infekcjach bakteryjnych. Uzyskano dzięki temu przedłużone, kontrolowane uwalnianie leku i jego większą aktywność

przeciwbakteryjną [19]. Z formulacji sporządzonych na bazie Pluronicu F-127 uwalniano także ceftiofur, lek stosowany w leczeniu infekcji kopyt u bydła. W tym celu przygotowano układy, które oprócz 25-35% Pluronicu F-127 zawierały poliwinylpirolidon (PVP), karboksymetylocelulozę (CMC) oraz hydroksypropylometylocelulozę (HPMC). Profil uwalniania ceftiofuru z uzyskanych układów opisano w oparciu o równanie kinetyki zerowego rzędu, a wprowadzenie do formulacji PVP, CMC, HPMC, podobnie jak obniżenie temperatury środowiska, powodowało spadek uwalniania leku przy niezmiennym tempie rozpuszczania żelu [20].

Pluronic F-127 wykorzystano także do opracowania implantów, w których można pozajelitowo podawać leki o budowie peptydowej. Taki sposób aplikacji substancji białkowych pozwala na ominięcie przeszkód, które pojawiają się przy ich podaniu na błony śluzowe jamy ustnej, nosa, płuc, przy podaniu doustnym, czy parenteralnym. Białka podawane na drodze pozajelitowej - dożylnie lub podskórną, ulegają szybkiej eliminacji z układu krążenia, co prowadzi do obniżenia ich działania terapeutycznego i wymaga wielokrotnych wstrzyknięć leku. Można temu zapobiec stosując duże dawki leku, ale wiąże się to z wystąpieniem szeregu działań niepożądanych. W żelu otrzymanym na bazie Pluronicu F-127, nawet przy wysokim stężeniu polimeru, białka formują jednorodne zawiesiny z zachowaniem swojej drugorzędowej struktury. Zastosowanie Pluronicu F-127 jako pozajelitowego nośnika dla peptydów, dzięki żelowaniu po podaniu, pozwala na uzyskanie przedłużonego działania substancji leczniczej, przy jednoczesnej eliminacji pojawiających się działań niepożądanych [6].

Pec, Johnston i Wang badali właściwości nośników sporządzonych na bazie Pluronicu F-127, w których podawano ureazę i interleukinę-2. Z opracowanych postaci leku wymienione substancje uwalniały się z kinetyką zerowego rzędu przez około 8 godzin. U zwierząt po dootrzewnowym i domięśniowym wstrzyknięciu uzyskanych układów, nie obserwowano żadnych układowych i miejscowych efektów toksycznych [21].

Z nośnika otrzymanego na bazie 36% pluroniku w buforze fosforanowym, Katakam i wsp. badali dostępność farmaceutyczną i biologiczną hormonu wzrostu. Uwalnianie substancji z tego żelu *in vitro* przebiegało z kinetyką zbliżoną do zerowego rzędu. Po podaniu w iniekcji domięśniowej i podskórnej preparatu, hormon wzrostu był uwalniany z tworzącego się *in situ* żelu w sposób kontrolowany [22].

Ricci i wsp. w żelu otrzymanym na bazie Pluronicu F-127 podawali lidokainę, substancję znieczulającą miejscowo o krótkim biologicznym okresie półtrwania, stosowaną w leczeniu ostrego i przewlekłego bólu. Opracowany nośnik - obok lidokainy i poloksameru - w

różnym stężeniu zawierał dodatek chlorku sodu, wodorofosforanu dwusodowego, wodorowęglanu sodowego oraz PEG 400. W obecności wymienionych substancji i przy wzroście stężenia polimeru, temperatura przemiany zol-żel tych formułacji ulegała obniżeniu. Po wstrzyknięciu opisanych układów, dzięki spowolnionemu procesowi uwalniania lidokainy z powstałego *in situ* żelu, wydłużył się jej czas działania znieczulającego [23]. Paavola i wsp. po wstrzyknięciu formułacji zawierających chlorowodrek lidokainy i ibuprofen w 25% roztworze pluroniku, nie obserwowali zmian w strukturze tkankowej w miejscu podania [24].

Jeong i wsp. poprzez zmieszanie dwóch kopolimerów PEO-g-PLGA i PLGA-g-PEO otrzymali termowrażliwe nośniki leku, które mogą uwalniać substancję leczniczą w różnym czasie. Mieszanina tych polimerów w stosunku 50:50 została wykorzystana jako nośnik dla insuliny, posiadający po wstrzyknięciu podskórnym u szczurów przedłużone hipoglikemiczne działanie przez około 5 dni [2].

Lee i wsp. otrzymali na bazie PEG i poliestru kwasu sebacynowego formułację tworzącą żel *in situ*. 25% wodny roztwór tych polimerów wykazuje przejście fazowe zol-żel przy wzroście temperatury do około 65°C. Z opisanego żelu po podskórnym wstrzyknięciu szczurom, uwalniał się w sposób kontrolowany przez około 24 godziny fluoresceinoizotiocyanian dekstranu (FITC-dekstran), o masie molekularnej wynoszącej około 40 000 Da [25].

Bhattarai i wsp. opracowali systemy o przedłużonym uwalnianiu tworzące *in situ* hydrożel. Układy te sformułowano na bazie chitozanu połączonego z PEG i uwalniano z nich *in vitro* albuminę surowicy wołowej (BSA). Wodne roztwory tego kopolimeru były płynne w niskiej temperaturze i przechodziły w półstałe układy w temperaturze zbliżonej do temperatury fizjologicznej, na skutek powstania wiązania kowalencyjnego między łańcuchem chitozanu i PEG. Badanie uwalniania BSA z opisanego hydrożelu przebiegało w sposób kontrolowany przez około 70 godzin [26].

Byeongmoon i wsp. otrzymali na bazie trójblokowego kopolimeru PEG-PLGA-PEG podawany pozajelitowo nośnik dla substancji o różnej hydrofobowości: ketoprofenu i spironolaktonu. Płynne formułacje uzyskane z wymienionego kopolimeru formują hydrożel *in situ* po iniekcji w temperaturze 37°C, przy czym etoprofen o właściwościach hydrofilowych uwalniał się z wymienionego nośnika przez około 2 tygodnie z kinetyką zerowego rzędu, podczas gdy hydrofobowy spironolakton był uwalniany przez około 2 miesiące (ryc. 2) [27].

Biokompatybilne, termowrażliwe poli(organo)fosfazeny i ich pochodne o dolnej krytycznej temperaturze rozpuszczania (LCST) niższej od fizjologicznej temperatury ciała, mogą być wykorzystywane do konstruowania systemów uwalniania dla peptydów i substancji

białkowych. Poprzez dołączenie w szkielecie poliorganofosfazenu krótkich łańcuchów glikolu trój- i tetraetylenowego jako grup hydrofilowych i dwupeptydu-GlyGluEt₂ (glicylo-L-glutaminowy ester dietylowy) jako grupy hydrofobowej, uzyskano nośnik, z którego uwalniano ludzki hormon wzrostu (hGH). W badaniach *in vitro* z powstałego *in situ* żelu, hGH uwalniał się przez 3–4 dni w sposób kontrolowany [28].

Udowodniono również, iż podawanie termowrażliwego polimeru połączonego z promieniotwórczym nuklidem do uszkodzonego przez zapalenie albo chorobę zwyrodnieniową stawu, może zmniejszać ból. Dzięki zmniejszonej aktywności makrofagów po wprowadzeniu nuklidu, można zredukować dawki podawanych analgetyków i innych często stosowanych substancji, takich jak immunosupresanty. Nadmiar strącającego się polimeru może działać jak substancja smarująca, zmniejszająca mechaniczne uszkodzenia chrząstki i sąsiadujących tkanek [29]. Z innej strony ten system może być wykorzystany do padania promieniotwórczego nuklidu bezpośrednio do guza nowotworowego, czy jako metoda dodatkowej radioterapii po chirurgicznym usunięciu tkanki nowotworowej w zapobieganiu nawrotom choroby, spowodowanej przez pozostałe komórki nowotworowe.

Liu i wsp. wstrzykiwali podskórnie termowrażliwy żel, otrzymany na bazie Pluroniku F-127, zawierający rekombinowaną hirudynę typu-2 (rHV2). W badaniach *in vitro* uwalnianie rHV2 z tego nośnika, można interpretować w oparciu o model kinetyki zerowego rzędu. W porównaniu do podania białka w roztworze wodnym, po iniekcji omawianego nośnika szczyrom zaobserwowano, iż działanie przeciwzakrzepowe substancji utrzymywało się dłużej, podobnie jak wydłużeniu uległ czas przebywania substancji w osoczu. Taki wynik pozwala sądzić, iż polimer ten może służyć do opracowywania nośników dla peptydów i białek o krótkim czasie półtrwania, w celu przedłużenia ich działania terapeutycznego i wzrostu biodostępności [30].

Nośniki podawane na skórę

Ksyloglukan stosuje się także do otrzymywania nośników niesteroidowych leków przeciwzapalnych, tj. ketoprofen i ibuprofen stosowanych na skórę [31].

Valenta i wsp. wykorzystali kopolimer PEG-PLGA-PEG do otrzymywania termowrażliwego nośnika dla znaczonego izotopem ³²P plazmidu DNA (pDNA), stosowanego w leczeniu trudno gojących się ran. Uwalnianie pDNA z powstałego *in situ* w temperaturze 37°C żelu, przebiegało z kinetyką zerowego rzędu przez około 12 dni. Maksymalną ekspresję genu lucyferazy w ranie myszy odnotowano po 24 godzinach od

momentu podania nośnika. Z przeprowadzonych badań wynika, iż hydrożel formowany przez PEG-PLGA-PEG może być stosowany w terapii genowej jako niewirusowy nośnik DNA, charakteryzujący się dużą skutecznością terapeutyczną [32].

Csóka i wsp. opracowali termowrażliwy system do transdermalnego podawania substancji leczniczych, z którego uwalnianie może być regulowane poprzez zmiany temperatury ciała. Do uzyskania matrycy tego systemu, użyto termowrażliwego polimeru - hydroksypropylometylocelulozy. Wrażliwość opracowanego nośnika na zmiany temperatury była modulowana poprzez dodatki soli: chlorku sodu, chlorku potasu czy wodorowęglanu sodu w różnych stężeniach. Wprowadzenie do formulacji 8% chlorku potasu pozwoliło na uzyskanie - zależnie od zastosowanej temperatury - różnej szybkości uwalniania soli sodowej diklofenaku. Na rycinie 3. wyraźnie widać, iż dostępność farmaceutyczna soli sodowej diklofenaku z systemu w temperaturze 40°C była o około 3-krotnie większa, w porównaniu do badania prowadzonego w temperaturze 25°C [33].

Nośniki podawane na błony śluzowe

Pluronic F-127 stosowany był również do konstruowania podawanego na błony śluzowe nosa nośnika dla witaminy B₁₂. Pisal i wsp. badali wpływ stężenia tego polimeru oraz wybranych substancji pomocniczych, tj. chlorku benzalkoniowego i sorbitolu na właściwości otrzymanych żeli. Zaobserwowali, iż dodanie witaminy i wymienionych substancji do opracowanych układów wpływa na obniżenie ich temperatury przejścia fazowego [34].

Hoffman i wsp. opisali badania nad podawaniem donosowym żeli sporządzonych na bazie pluroniku w połączeniu z chitozanem. W hydrożelach tych aplikowano proteiny przeciwzapalne, będące blokerami receptorów dla cytokin, tj. interleukina-1 i czynnik martwicy nowotworu (*tumor necrosis factor*, TNF) [35].

Pereswetoff-Morath i wsp. badali hipoosmotyczne formułacje opracowane na bazie etylohydroksyetylocelulozy (EHEC), laurylosiarczanu sodu, m-krezolu i glicerolu tworzące żel *in situ* po aplikacji na błonę śluzową nosa. Otrzymany system ze względu na mukoadhezyjne właściwości i szybkie uwalnianie insuliny, może być stosowany do szybkiej normalizacji poziomu glukozy we krwi [36].

Park i wsp. opisali nośnik plazmidu DNA, opracowany na bazie termowrażliwego polimeru poloksameru w połączeniu z bioadhezyjnym polimerem polikarbofilem czy polioksyetylenem. Oba dodawane polimery powodowały spadek temperatury żelowania

poloksameru w stronę wartości temperatury fizjologicznej. Po podaniu *in vivo* formulacji zawierającej polikarbofil i poloksamer, obserwowano 11-krotny wzrost absorpcji DNA w porównaniu do podania plazmidu DNA w roztworze soli fizjologicznej [37].

Majithiya i wsp. w badaniach *in vitro* oceniali otrzymane na bazie Pluroniku F-127 i mukoadhezyjnego polimeru Carbopolu 934P termowrażliwe donosowe nośniki dla sumatriptanu. Rezultaty badań *in vitro* nośnika po naniesieniu na śluzówkę nosa owcy pozwoliły stwierdzić, iż postać ta nie powoduje zmian histopatologicznych, a dzięki właściwościom mukoadhezyjnym poprawia przenikanie substancji leczniczej i przedłuża czas pozostawania preparatu na śluzówce. Zastosowanie sumatriptanu w termowrażliwym żelu, może przedłużać absorpcję tej substancji po aplikacji i stanowić tym samym nową postać wykorzystywaną w terapii migren [38].

Scherlund i wsp. opisali możliwość zastosowania etylohydroksyetylocelulozy (EHEC) w połączeniu z surfaktantem, w celu uzyskania termowrażliwego nośnika substancji znieczulających podawanego do kieszonek dziąsłowych [39]. Badacze inkorporowali w roztworze polimeru z dodatkiem surfaktantu lidokainę oraz pilokarpinę i uzyskali przedłużone o około 1 godzinę działanie leku po aplikacji, co może być wykorzystane w lepszym kontrolowaniu bólu.

Zaki i wsp. porównywali dostępność biologiczną chlorowodorku metoklopramidu po dożylnym i doustnym podaniu roztworu substancji, oraz po jej donosowej aplikacji z powstającego *in situ* mukoadhezyjnego żelu. Z żelu zawierającego 10% chlorowodorku metoklopramidu, 18% poloksameru 407, 0,5% carbopolu® 934P, 8% PEG 400 oraz 0,01% chlorku benzalkoniowego uzyskano 69% dostępność biologiczną substancji, w stosunku do 100% dla podania dożylnego i 51% dla podania doustnego roztworu. Opracowanie donosowej postaci leku dla metoklopramidu może być alternatywą dla doustnego podania tej substancji, ze względu na jej zróżnicowaną biodostępność per os (32 do 98%) oraz w przypadku trudności z wchłanianiem leku u pacjentów, u których występują mdłości czy wymioty (ryc. 4) [40].

Termowrażliwe nośniki podawane do oka

Na bazie termowrażliwych polimerów konstruowane mogą być również nowoczesne oftalmiczne postacie leku. W związku z istnieniem w oku licznych barier ochronnych, jego ograniczoną pojemnością oraz niską zdolnością do utrzymywania się ciekłych i półpłynnych preparatów w obszarze aparatu ochronnego i przedniego odcinka gałki ocznej, zwiększenie

skuteczności terapii można osiągnąć poprzez zastosowanie żeli powstających *in situ* po aplikacji. Pozwala to na dłuższe pozostawanie postaci na powierzchni oka i sprawia, iż woda oraz substancje aktywne w niej zawarte mają przedłużony kontakt z nabłonkiem oka.

Hsiue i wsp. sporządzili w oparciu o poli-N-izopropylakrylamid nośnik dla epinefryny, mający zastosowanie w leczeniu jaskry. Otrzymany przy wykorzystaniu polimeru roztwór przechodził w żel po aplikacji przy wzroście temperatury do około 32°C. Epinefryna była podawana w roztworze wodnym otrzymanym na bazie liniowego poli-N-izopropylakrylamidu lub w mieszaninie utworzonej z liniowego i usieciowanego polimeru. Po podaniu obu formułacji królikom uzyskano, w stosunku do konwencjonalnych kropli ocznych, spadek ciśnienia śródgałkowego sześć razy dłuższy dla liniowego połączenia substancja-polimer i odpowiednio osiem razy dłuższy dla mieszaniny formy liniowej i usieciowanej polimeru [41].

El-Kamel uzyskał nośniki dla maleinianu tymololu, zawierające obok Pluronicu F-127 dodatek metylcelulozy (MC), karboksymetylocelulozy (CMC) oraz hydroksypropylometylocelulozy (HPMC). Z formułacji otrzymanej z wykorzystaniem 15% Pluronicu F-127 i 3% metylcelulozy uzyskano przedłużone uwalnianie maleinianu tymololu [42].

Termowrażliwy żel sporządzony z ksyloglukanu w stężeniu 1,0, 1,5 i 2,0% zastosowano do podania chlorowodoru pilokarpiny. Uwalnianie *in vitro* pilokarpiny z żelu powstającego przy wzrastającej do 34°C temperaturze, przebiegało z kinetyką proporcjonalną do kwadratu z czasu przez około 6 godzin. Stopień zwężenia źrenicy u królików po aplikacji nośnika był porównywalny z uzyskanym po podaniu pilokarpiny w roztworze Pluronicu F127, czy w buforze o tym samym stężeniu substancji. Z wszystkich opracowanych żeli uzyskano przedłużone uwalnianie substancji, a stopień zwężenia źrenicy dla 1,5% żelu ksyloglukanowego z pilokarpiną, był podobny do osiąganego po podaniu parasympatykomimetyku w 25% żelu na bazie Pluronicu F127 [43].

Bochot i wsp. opracowali nowy system uwalniania oligonukleotydów podawanych na gałkę oczną. W celu przedłużenia czasu utrzymywania się tych substancji w worku spojówkowym oraz w celu zwiększenia ich skuteczności i ochrony przed degradacją, oligonukleotydy zamykano w liposomach i zawieszano w termowrażliwym żelu. Na uwalnianie substancji z tego nośnika wpływały zarówno stężenie poloksameru 407, charakter liposomów, jak i właściwości powierzchniowo-czynne, mogące destabilizować liposomy podłoża poloksamerowego. Stabilne liposomy były otrzymywane tylko w wysokolepkim żelu poloksamerowym, kiedy cholesterol i pegylowana distearoylofosfatydyloetanolamina (DSPE-

PEG) były inkorporowane do podwójnej warstwy lipidowej pęcherzyka.

Badacze przypuszczają, iż obecność polietylenoglikolu przy powierzchni liposomu i neutralny ładunek pęcherzyków zmniejszał powinowactwo liposomów do nabłonka rogówki. To mogłoby tłumaczyć, dlaczego rozpuszczalne w wodzie oligonukleotydy podawane w liposomach u królika osiągały niższe stężenie substancji w tkankach, w porównaniu do podania ich w postaci wolnej czy w żelu poloksamerowym [44] .

Hongyi i wsp. otrzymali termowrażliwe systemy uwalniania pueraryny, izoflawonu izolowanego z korzeni *Pueraria*, zawierające poloksamer 407 (21%), poloksamer 188 (5%) i karbopol 1342P w stężeniu 0,1 i 0,2%. Badania dostępności farmaceutycznej pueraryny *in vitro* wykazały kontrolowane dyfuzją przedłużone do 8 godzin uwalnianie substancji. Czas wymywania leku i stopień obniżenia ciśnienia śródgałkowego po aplikacji nośnika *in vivo* były korzystniejsze po podaniu opracowanych formułacji, w porównaniu do postaci uzyskanych wyłącznie w oparciu o sam poloksamer czy karbopol [45].

LITERATURA

- [1] Eeckman F., Moës A. J., Amighi K.: Poly(*N*-isopropylacrylamide) copolymers for constant temperature controlled drug delivery. *Int. J. Pharm.* (2004), 273, 109-119.
- [2] Ruel-Gariépy E., C.Leroux J.: In situ forming hydrogels-review of temperature-sensitive systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* (2004), 58, 409-426.
- [3] Gil E. S., Hudson S. M.: Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates. *Prog. Polym. Sci.* (2004), 29, 1177-1222.
- [4] Meyer D. E., Shin B. C., Kong G. A., Dewhirst M. W., Chilkoti A.: Drug targeting using thermally responsive polymers and local hyperthermia. *J. Control. Rel.* (2001), 74, 213-224.
- [5] Schmaljohann D.: Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (2006), 58, 1655-1670.
- [6] Miyazaki S., Kawasaki N., Kubo W., Endo K., Attwood D.: Comparison of in situ gelling formulations for the oral delivery of cimetidine. *Int. J. Pharm.* (2001), 220, 161-168.
- [7] Miyazaki S., Aoyama H., Kawasaki N., Kubo W., Attwood D.: In situ-gelling gellan formulations as vehicles for oral drug delivery. *J. Control. Rel.* (1999), 60, 287-295.
- [8] Kawasaki N., Ohkura R., Miyazaki S., Uno Y., Sugimoto S., Attwood D.: Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for oral drug delivery. *Int. J. Pharm.* (1999), 181, 227-234.

- [9] Bromberg L. E., Ron E. S.: Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (1998), 31, 197-221.
- [10] Park Y. J., Yong Ch. S., Kim H. M., Rhee J. D., Oh Y. K., Kim Ch. K., Choi H. G.: Effect of sodium chloride on the release, absorption and safety of diclofenac sodium delivered by poloxamer gel. *Int. J. Pharm.* (2003), 263, 105-111.
- [11] Suisha F., Kawasaki N., Miyazaki S., Shirakawa M., Yamatoya K., Sasaki M., Attwood D.: Xyloglucan gels as sustained release vehicles for the intraperitoneal administration of mitomycin C. *Int. J. Pharm.* (1998), 172, 27-32.
- [12] Ryu J. M., Chung S. J., Lee M. H., Kim Ch. K., Shim Ch. K.: Increased bioavailability of propranolol in rats by retaining thermally gelling liquid suppositories in the rectum. *J. Control. Rel.* (1999), 59, 163–172.
- [13] Chang J. Y., Oh Y. K., Kong H. S., Kim E. J., Jang D. D., Nam K. T., Kim C. K.: Prolonged antifungal effects of clotrimazole-containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis. *J. Control. Rel.* (2002), 82, 39–50.
- [14] Neves J., Bahia M. F.: Gels as vaginal drug delivery systems. *Int. J. Pharm.* (2006), 318, 1-14.
- [15] Durig T., Fassihi R.: Guar-based monolithic matrix systems: effect of ionizable and non-ionizable substances and excipients on gel dynamics and release kinetics. *J. Control. Rel.* (2002), 80, 45-56.
- [16] Bilensoy E., Rouf M. A., Vural I., Hincal A. A.: Thermosensitive vaginal gel formulation for the controlled release of clotrimazole via complexation to beta-cyclodextrin. *J. Control. Rel.* (2006), 116, 107-109.
- [17] Chen S., Pieper R., Webster D. C., Singh J.: Triblock copolymers: synthesis, characterization, and delivery of a model protein. *Int. J. Pharm.* (2005), 288, 207-218.
- [18] Chen S., Singh J.: Controlled delivery of testosterone from smart polymer solution based systems: In vitro evaluation. *Int. J. Pharm.* (2005), 295, 183-190.
- [19] Veyries M. L., Couarraze G., Geiger S., Agnely F., Massias L., Kunzli B., Faurisson F., Rouveix B.: Controlled release of vancomycin from Poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.* (1999), 192, 183-193.
- [20] Zhang L., Parsons D. L., Navarre Ch., Kompella U. B.: Development and in-vitro evaluation of sustained release Poloxamer 407 (P407) gel formulations of ceftiofur. *J. Control. Rel.* (2002), 85, 73-81.
- [21] Wang P. L., Johnston T. P.: Sustained-release interleukin-2 following intramuscular injection in rats. *Int. J. Pharm.* (1995), 113, 73-81.

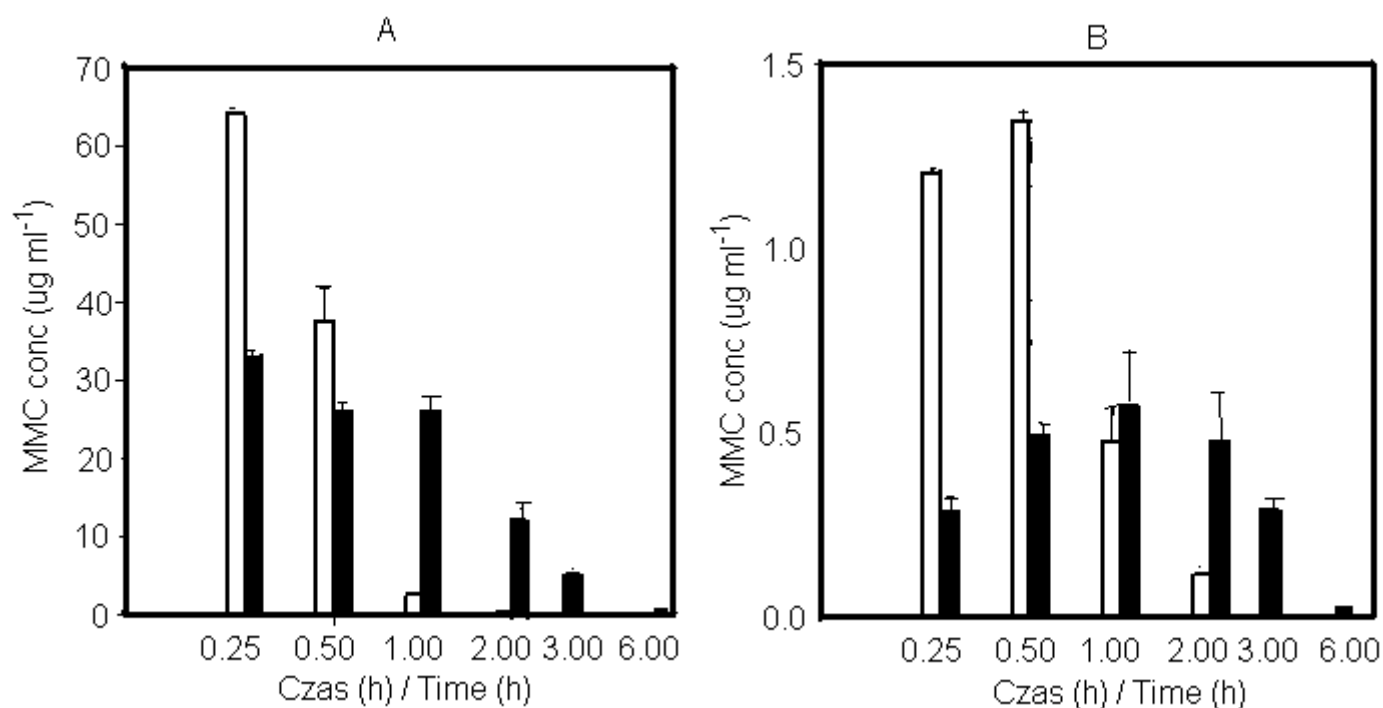
- [22] Katakam M., Ravis W. R., Banga A. K.: Controlled release of human growth hormone in rats following parenteral administration of poloxamer gels. *J. Control. Rel.* (1997), 49, 21-26.
- [23] Ricci E. J., Bentley M. V. L. B., Farah M., Bretas R. E. S., Marchetti J. M.: Rheological characterization of Poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. *Eur. J. Pharm. Sci.* (2002), 17, 161-167.
- [24] Paavola A., Yliruusi J., Rosenberg P.: Controlled release and dura mater permeability of lidocaine and ibuprofen from injectable poloxamer-based gels. *J. Control. Rel.* (1998), 52, 169-178.
- [25] Lee J., Joo M. K., Oh H., Sohn Y. S., Jeong B.: Injectable gel: Poly(ethylene glycol)-sebacic acid polyester. *Polymer* (2006), 47, 3760-3766.
- [26] Bhattarai N., Ramay H. R., Gunn J., Matsenb F. A., Zhang M.: PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release. *J. Control. Rel.* (2005), 103, 609-624.
- [27] Jeong B., Kim S. W., Bae Y. H.: Thermosensitive sol–gel reversible hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (2002), 54, 37-51.
- [28] Seong J. Y., Jun Y. J., Kim B. M., Park Y. M., Sohn Y. S.: Synthesis and characterization of biocompatible poly(organophosphazenes) aiming for local delivery of protein drugs. *Int. J. Pharm.* (2006), 314, 90-96.
- [29] Hruby M., Subra V., Kucka J., Kozempel J., Lebeda O., Sikora A.: Thermoresponsive polymers as promising new materials for local radiotherapy. *Appl. Radiat. Isot.* (2005), 63, 423-431.
- [30] Liu Y., Lu W. L., Wang J. C., Zhang X., Zhang H., Wang X. Q., Zhou T. Y., Zhang Q.: Controlled delivery of recombinant hirudin based on thermo-sensitive Pluronic(R) F127 hydrogel for subcutaneous administration: In vitro and in vivo characterization. *J. Control. Rel.* (2007), 117, 387-395.
- [31] Takahashi A., Suzuki S., Kawasaki N., Kubo W., Miyazaki S., Loebenberg R., Bachynsky J., Attwood D.: Percutaneous absorption of non-steroidal anti-inflammatory drugs from in situ gelling xyloglucan formulations in rats. *Int. J. Pharm.* (2002), 246, 179-186.
- [32] Valenta C., Auner B. G.: The use of polymers for dermal and transdermal delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* (2004), 58, 279-289.
- [33] Csóka G., Gelencsér A., Makó A., Marton S., Zelkó R., Klebovich I., Antal I.: Potential application of Metolose® in a thermoresponsive transdermal therapeutic system. *Int. J.*

Pharm. (2007), 338, 15-20.

- [34] Pisal S. S., Paradkar A. R., Mahadik K. R., Kadam S. S.: Pluronic gels for nasal delivery of Vitamin B12. Part I: Preformulation study. *Int. J. Pharm.* (2004), 270, 37-45.
- [35] Hoffman A. S.: Applications of thermally reversible polymers and hydrogels in therapeutics and delivery systems. *J. Control. Rel.* (1987), 6, 297-305.
- [36] Pereswetoff-Morath L., Edman P.: Influence of osmolarity on nasal absorption of insulin from the thermogelling polymer ethyl(hydroxyethyl)cellulose. *Int. J. Pharm.* (1995), 125, 205-213.
- [37] Ugwoke M. I., Agu R. U., Verbeke N., Kinget R.: Nasal mucoadhesive drug delivery: Background, applications, trends and future perspectives. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (2005), 57, 1640-1665.
- [38] Majithiya R. J., Ghosh P. K., Umrethia M. L., Murthy R. S. R.: Thermoreversible-mucoadhesive gel for nasal delivery of sumatriptan. *APS Pharm. Sci. Tech.* (2006), 67.
- [39] Scherlund M., Brodin A., Malmsten M.: Nonionic Cellulose Ethers as Potential Drug Delivery Systems for Periodontal Anesthesia. *J. Colloid Interface Sci.* (2000), 229, 365-374.
- [40] Zakia N. M., Awad G. A., Mortada N. D., Abd ElHady S. S.: Enhanced bioavailability of metoclopramide HCl by intranasal administration of a mucoadhesive in situ gel with modulated rheological and mucociliary transport properties. *Eur. J. Pharm. Sci.* (2007), 32, 296-307.
- [41] Hsiue G. H., Hsu S. H., Yang Ch. Ch., Lee S. H., Yang I. K.: Preparation of controlled release ophthalmic drops, for glaucoma therapy using thermosensitive poly-N-isopropylacrylamide. *Biomaterials* (2002), 23, 457-462.
- [42] El-Kamel A. H.: In vitro and in vivo evaluation of Pluronic F127-based ocular delivery system for timolol maleate. *Int. J. Pharm.* (2002), 241, 47-55.
- [43] Miyazaki S., Suzuki S., Kawasaki N., Endo K., Takahashi A., Attwood D.: In situ gelling xyloglucan formulations for sustained release ocular delivery of pilocarpine hydrochloride. *Int. J. Pharm.* (2001), 229, 29-36.
- [44] Ludwig A.: The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (2005), 57, 1595-1639.
- [45] Hongyi Q., Li L., Chunyan H., Wenmin L., Chunjie W.: Optimization and Physicochemical Characterization of Thermosensitive Poloxamer Gel Containing Puerarin for Ophthalmic Use. *Chem. Pharm. Bull.* (2006), 54, 1500-1507.

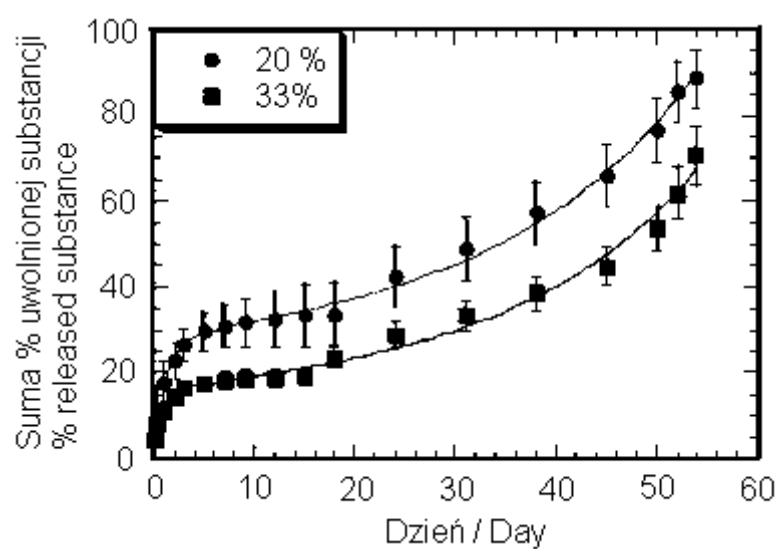
Adres autorów

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku,
Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
ul. Szewska 38, 50-139 Wrocław
tel. 071 784 0324
e-mail: bozkar@wp.pl



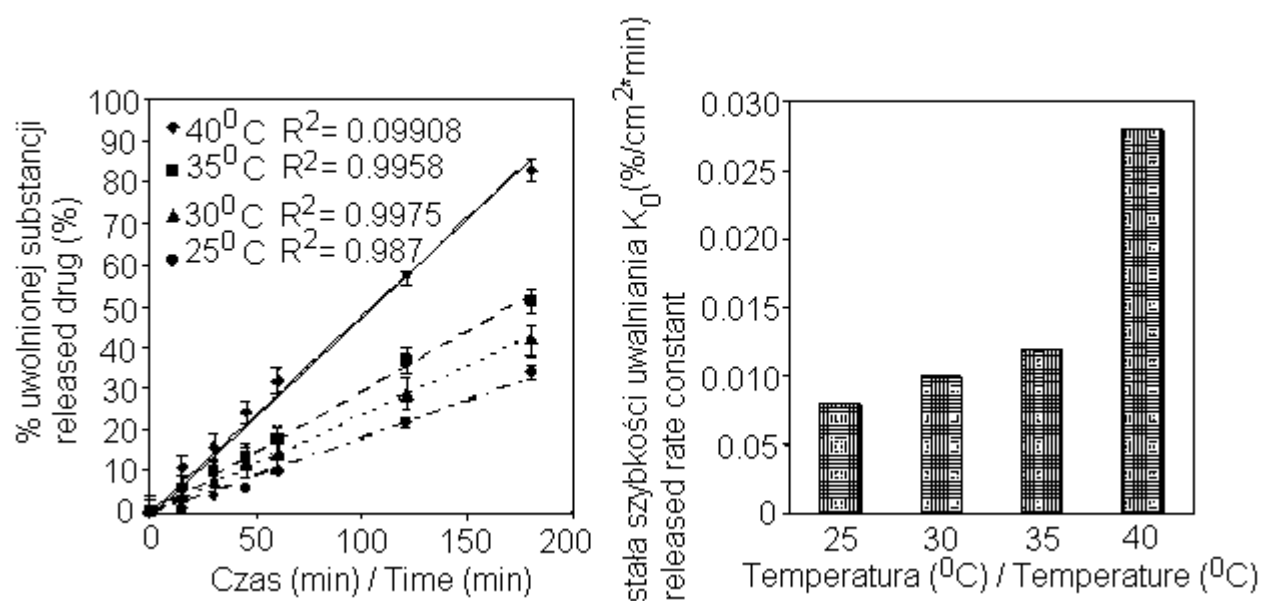
Ryc. 1. Koncentracja mitomycyny u szczurów po podaniu doodbytniczym 1,5% żelu ksyloglukonowego: A - w odbytnicy, B - w osoczu. Słupki zakreślone oznaczają stężenie mitomycyny po podaniu jej w żelu ksyloglukanowym, słupki niezakreślone obrazują stężenie substancji po podaniu jej w buforze

Fig. 1. Ascites concentration of MMC as a function of time after i. p. administration to rats of MMC in 1.5% (w:w) xyloglucan gel (shaded) and buffer solution. Plasma concentration of MMC as a function of time after i.p. administration to rats of MMC in 1.5% (w:w) xyloglucan gel (shaded) and buffer solution [11]



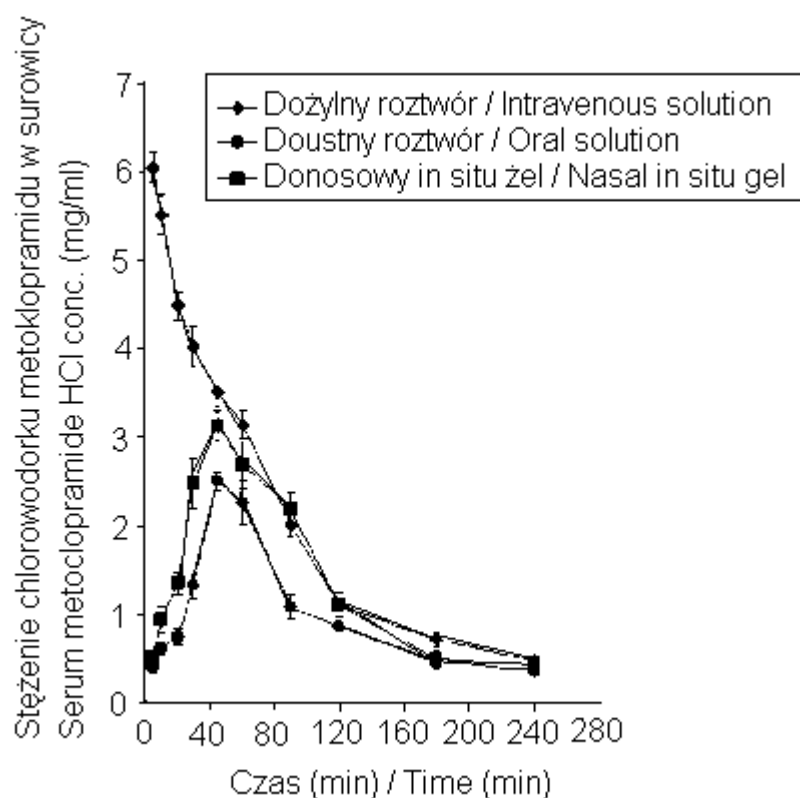
Ryc. 2. Dostępność farmaceutyczna spironolaktonu (0,25%) z żeli otrzymanych na bazie PEG-PLGA-PEG (20 i 30% polimeru)

Fig. 2. Spironolactone release from a PEG-PLGA-PEG (550–2810–550) triblock copolymer hydrogel. The legend indicates the initial concentration of polymer in the PBS buffer. The drug load was fixed at 0.25 wt% [27]



Ryc. 3. Uwalnianie soli sodowej diklofenaku (1%) w różnej temperaturze z 4% żelu z hydroksypropylometylocelulozy (Metolose 60 SH) z dodatkiem 8% chlorku potasu

Fig. 3. Thermoresponsive drug release (1%, w/w diclofenac-Na) from Metolose® 60 SH gel with 8% KCl. Effect of temperature on release rate constants (k_0) of diclofenac-Na from Metolose® 60 SH gel with 8% KCl [33]



Ryc. 4. Oznaczone stężenia chlorowodoru metoklopramidu w czasie w surowicy królika po dożylnym i doustnym podaniu roztworu oraz donosowym podaniu powstającego *in situ* żelu zawierającego Pluronic 407 (18%)/Carbopol 934P (0,5%)/PEG400 (8%)/chlorek benzalkoniowy (0,01%)

Fig. 4. Mean serum concentration-time profiles following administration of intravenous and oral solutions or nasal *in situ* gel of metoclopramide HCl in rabbits. In situ gel composed of 18/0.5/8/0.01% (w/w) of P407/CBP/PEG400/benzalkonium Cl

Tabela. Biodostępność indometacyny u szczurów (7h) po podaniu dożylnym i doustnym termowrażliwych nośników otrzymanych na bazie różnych stężeń ksyloglukanu w porównaniu do pozajelitowego podania substancji

Table. Comparison of bioavailability parameters of indomethacin administered from xyloglucan gels [8]

	t_{\max} (h)	C_{\max} ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	AUC ($\mu\text{g h ml}^{-1}$)	$AUC_{\text{oral}} / AUC_{\text{i. v.}}$
I. v.	-	-	120.07 ± 8.58	-
<i>Xyloglucan gel</i>				
0,5% w/w	0.80 ± 0.30	21.31 ± 2.78	99.53 ± 6.48	0.829 ± 0.05
1,0% w/w	3.80 ± 0.92	10.82 ± 2.28	53.71 ± 10.55	0.447 ± 0.09
1,5% w/w	3.00 ± 0.45	10.63 ± 2.56	57.82 ± 12.26	0.482 ± 0.10

I. v. - iniekcja dożylna; *Xyloglucan gel* - żel ksyloglukanowy; t_{\max} - czas, po którym zostało osiągnięte maksymalne stężenie indometacyny we krwi; C_{\max} - maksymalne osiągnięte stężenie indometacyny we krwi; AUC - pole powierzchni pod krzywą stężenie leku do czasu po podaniu pozajelitowym indometacyny; $AUC_{\text{oral}} / AUC_{\text{i.v.}}$ - stosunek pola powierzchni pod krzywą stężenie leku do czasu po podaniu pozajelitowym indometacyny do pola powierzchni pod krzywą po podaniu doustnym leku