

VÝBĚR PLASTIFIKÁTORU PRO VĚTVENÉ OLIGOESTERY POUŽÍVANÉ JAKO NOSIČE LÉČIV

EVA ŠNEJDROVÁ, MARTIN DRASTÍK
a MILAN DITTRICH

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci
Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
eva.snejdrova@faf.cuni.cz, martin.drastik@faf.cuni.cz,
milan.dittrich@faf.cuni.cz

Došlo 9.10.12, přijato 7.11.12.

Rukopis byl zařazen k tisku v rámci placené služby
urychleného publikování.

Klíčová slova: plastifikátory, oligoestery, teplota skelného
přechodu, dynamická viskozita

Úvod

Hlavní funkcí plastifikátoru je zlepšit zpracovatelnost, pružnost a difuzivitu polymeru snížením teploty skelného přechodu. Plastifikátory představují v současné době asi třetinu z celkového množství aditiv obsažených v polymezech a poptávka po nich se neustále zvyšuje¹. Z technologických a ekonomických důvodů je zájem zejména o plastifikátory se specifickými vlastnostmi splňující požadavky jednotlivých odvětví průmyslu, farmaceutický průmysl nevyjímaje.

Historicky prvním plastifikovaným polymerem, použitým při formulaci léčivého přípravku, byl nitrát celulosy rozpuštěný ve směsi lihu a diethyletheru s přidávkou ricinového oleje ve funkci plastifikátoru². Dodnes se tato kompozice, známá pod názvem *Collodium elasticum*, používá v chirurgii ke krytí ran.

Pouze malá část plastifikátorů dostupných na trhu je povolena k lékařskému a farmaceutickému využití. Obecně je základním kritériem při výběru plastifikátoru jeho účinnost a mísitelnost s polymerem³. Pro použití plastifikátoru v živém organismu je nutno předřadit kritérium toxicity a biokompatibility a rovněž vzít v úvahu způsob aplikace, velikost dávky a frekvenci dávkování plastifikovaného polymerního systému. Např. v tabletách, potahovaných tenkým filmem plastifikovaného polymeru, je plastifikátor obsažen řádově v setinách procent. V implantátech *in situ*, kde plastifikátor snižuje viskozitu, aby soustava mohla být aplikována injekční jehlou, je obsah plastifikátoru v desítkách procent a přejímá funkci rozpouštědla polymeru. Rozdíl mezi plastifikátorem a rozpouštědlem není jednoznačně definován. Vhodná koncentrace plastifikátoru se může pohybovat v rozmezí 5 až 30 %, ale i více,

zejména v závislosti na stupni krystalinity polymeru⁴. Plastifikátory na přírodní bázi, charakterizované nízkou toxicitou a migrací, jsou v současnosti požadovány nejen pro oblast medicíny a farmacie, a to zejména z ekologických důvodů⁵. Při prevalenci plně degradabilních polymerů je logicky vznesen požadavek, aby i použité plastifikátory byly degradovatelné⁶.

Ve farmacii jsou pro plastifikaci polymerů preferovány externí plastifikátory, které interagují s polymerními řetězci, ale nejsou vázány kovalentními vazbami. Výhodou je možnost výběru vhodného plastifikátoru s ohledem na požadované vlastnosti léčivého přípravku, zejména liberaci inkorporovaných léčiv. Preferovány jsou plastifikátory molekulárně mísitelné s amorfni fází polymeru. Nevýhodou externích plastifikátorů je, že může dojít k jejich evaporaci, migraci nebo extrakci. Použití interních plastifikátorů, založené na modifikaci monomerních jednotek nebo postranních řetězců, je ve farmacii problematické. Důvodem je skutečnost, že zavedení nových polymerů jako pomocných látek do lékopisů je stejně ekonomicky a časově náročné jako zavedení nové léčivé látky⁷.

Funkci plastifikátoru v polymerním terapeutickém systému mohou mít i pomocné látky, které mají jiný účel (např. protimikrobní přísady), nebo inkorporované léčivé látky. V literatuře jsou označovány jako netradiční či multifunkční plastifikátory⁸. Nízkomolekulární větvené polyestery se díky kontinuální degradaci neenzymatickou hydrolýzou v průběhu několika dnů a nízkému stupni bobtnání jeví jako vhodné nosiče léčiv⁹. Mohou být využity v maticových terapeutických systémech aplikovaných sprejově na kůži či sliznici nebo injekčně do podkoží, a to za předpokladu, že viskozita systému bude snížena vhodným plastifikátorem. Dostatečně nízké viskozity musí být dosaženo při fyziologické teplotě, nebo maximálně při teplotě do 45 °C, kdy ještě nedochází k podráždění tkání.

Cílem této práce bylo najít vhodný plastifikátor oligoesteru kyseliny mléčné a glykolové, větveného mannitolu (PLGA-M), který je potenciálním nosičem léčivých látek v terapeutických systémech s modifikovaným uvolňováním. Plastifikací se sníží viskozita oligoesteru a přípravek může být aplikován injekčně, nebo topicky ve formě spreje na pokožku nebo sliznici.

Experimentální část

Materiál

Lactel® [lineární poly(D,L-laktid-co-glykolid), viz tab. I] byl dodán firmou Sigma-Aldrich, USA. Poly(D,L-laktid-co-glykolid) (50:50) i terpolymer kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a mannitolu (48,5:48,5:3) byly syntetizovány na pracovišti autorů (viz tab. I). Triethylcitrát (Merck, SRN), ethylpyruvát, ethylsalicylát, methylsalicylát, triacetin, tributyrin (Sigma-Aldrich, USA) byly dodány v čistotě p.a.

Tabulka I
Charakteristiky testovaných polyesterů

| Označení | Složení | M_w [g/mol] | $M_{w,SEC}/M_w$ | Konstituce |
|---------------------|--|----------------------------------|-----------------|-------------------|
| Lactel [®] | poly(D,L-laktid- <i>co</i> -glykolid) (65:35) | 40 000 až 75 000 ^a | – | lineární polymer |
| PLGA | poly(D,L-laktid- <i>co</i> -glykolid) (50:50) | 4100 | 1,50 | lineární oligomer |
| PLGA-M | Terpolymer kyseliny mléčné, glykolové a mannitolu (48,5:48,5:3) | 3800 | 1,08 | větvený oligomer |

Definice a způsob stanovení M_w a $M_{w,SEC}$ viz Experimentální část. ^a Hodnota deklarovaná firmou Sigma-Aldrich, USA

Přístroje

Dynamická viskozita byla měřena digitálním viskozimetrem Brookfield model DV-E (Brookfield Engineering Laboratories, USA), teploty skelného přechodu na DSC 200 F3 Maia[®] (Netzsch, SRN).

Pomocí rozměrově vylučovací chromatografie (SEC) byly pro všechny vzorky stanoveny jednak skutečné hodnoty hmotnostně střední molární hmotnosti (M_w , rozptylový detektor), jednak relativní hodnoty hmotnostně střední molární hmotnosti $M_{w,SEC}$ (refraktometrický detektor, polystyrenové standardy). Pro měření byl použit kapalinový chromatograf Alliance firmy Waters s detekcí rozptylovým fotometrem miniDAWN firmy Wyatt Technology Corporation a diferenciálním refraktometrem 410 (Waters). Pro separaci byly použity dvě kolony PLgel Mixed-C firmy Agilent kalibrovány polystyrenovými standardy od téže firmy. Jako mobilní fáze byl použit tetrahydrofuran (THF) při průtoku 1 ml min⁻¹. Vzorky byly dávkovány jako roztoky v THF o koncentraci 4 % w/v a objemu 100 µl.

Pracovní postupy

Byla provedena diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) polyesterových sloučenin a směsí větveného oligoesteru s různými plastifikátory. Vzorky byly zahřívány od 20 °C do 90 °C rychlostí 10 °C min⁻¹ (první ohřev) a udržovány při této teplotě po dobu 5 min. Po ochlazení na –60 °C byly vzorky znovu zahřívány na teplotu 90 °C rychlostí 10 °C min⁻¹ (druhý ohřev). Z druhého ohřevu byly v inflexním bodě termogramu odečteny hodnoty teploty skelného přechodu (T_g).

Byla měřena dynamická viskozita na vřetenovém viskozimetru Brookfield DV-E s využitím adaptéru pro malé množství vzorku. Větvený oligoester (PLGA-M) byl v uzavřené nádobě zahřát na teplotu 80 °C. Byl přidán plastifikátor stejné teploty, směs byla důkladně zhomogenizována a umístěna do termostatovaného měřicího válce viskozimetru. Měření bylo realizováno vřetenem 14 při teplotě 37 °C. Rychlost otáčení vřeten byla postupně zvyšována z počátečních 0,3 ot/min na 100 ot/min, čemuž

odpovídají hodnoty rychlostního spádu 0,12 až 40 s⁻¹. Byly zaznamenány hodnoty dynamické viskozity a sestrojeny viskozitní křivky oligoesteru plastifikovaného různými plastifikátory.

Výsledky a diskuse

Na pracovišti autorů byly stupňovou kopolymerací při 150 °C a 500 kPa syntetizovány kopolymer kyseliny D,L-mléčné a glykolové (PLGA) a větvený terpolymer kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a mannitolu (PLGA-M). Základní charakteristiky těchto originálních sloučenin byly porovnány s komerčně dostupným polyesterem Lactel[®] (tab. I). Hodnoty poměru $M_{w,SEC}/M_w$ (definice viz Experimentální část) jsou ve vztahu ke stupni větvení vzorku. Při dané hodnotě M_w klesá s rostoucím stupněm větvení vzorku hodnota $M_{w,SEC}$. V ideálním případě, tj. pro přísně lineární polymer a při kalibraci přístroje SEC pomocí monodisperzních frakcí téhož polymeru, by byl tento poměr roven jedné a s rostoucím stupněm větvení dále klesal; v našem případě, kdy byly použity frakce polystyrenu a hodnoty $M_{w,SEC}$ jsou pouze relativní, tento zlomek rovněž klesá, ale jeho hodnoty jsou posunuty nad 1. Obecně platí, že zlomek $M_{w,SEC}/M_w$ slouží pouze jako hrubý odhad míry větvení.

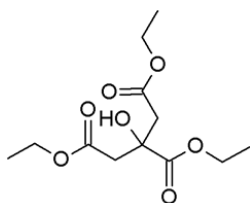
Teplota skelného přechodu Lactelu[®] stanovená metodou DSC je 48,8 °C. S klesající molární hmotností a změnou konstituce řetězce se teplota skelného přechodu snižuje (tab. II).

Kritériem pro výběr plastifikátoru byla jeho biokompatibilita, biodegradabilita, mísitelnost s oligoesterem na homogenní směs i ve vyšších koncentracích. Nezbytná je nízká těkavost, aby při přípravě matric metodou extruze tavením nedocházelo k evaporaci plastifikátoru. Výhodou je multifunkčnost, tedy požadavek, aby plastifikátor kromě snížení teploty skelného přechodu a viskozity měl rovněž vlastnosti léčivé nebo farmaceutické pomocné látky. Triethylcitrát (obr. 1) je povolen pro použití v potravinářství, v medicíně i farmacii jako vysokovroucí rozpouštědlo a plastifikátor polymerů. Triacetin (obr. 2) se používá v medicíně jako lokální mykotikum k terapii povr-

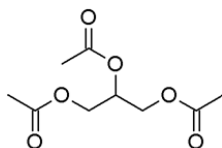
Tabulka II
Teploty skelného přechodu T_g testovaných vzorků

| Polymer ^a | Plastifikátor (koncentrace 20 %) | T_g [°C] |
|----------------------|-------------------------------------|------------|
| Lactel [®] | – | 48,8 |
| PLGA (50:50) | – | 29,8 |
| PLGA-M | – | 24,1 |
| PLGA-M | triethylcitrát | –2,6 |
| PLGA-M | ethylpyruvát | –21,5 |
| PLGA-M | methylsalicylát | –6,7 |
| PLGA-M | ethylsalicylát | –6,1 |
| PLGA-M | triacetin | –5,6 |
| PLGA-M | tributyryn | –6,2 |

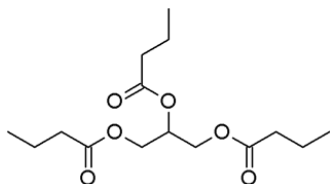
^a PLGA – poly(D,L-laktid-*co*-glykolid), PLGA-M – terpolymer kyseliny mléčné, glykolové a mannitolu



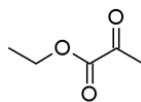
Obr. 1. Triethylcitrát



Obr. 2. Triacetin



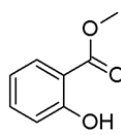
Obr. 3. Tributyrin



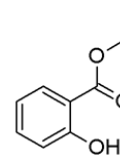
Obr. 4. Ethylpyruvát

chových plísňových onemocnění kůže a nehtů. Rovněž tributyrin (obr. 3) je schválen pro použití v potravinářství, v medicíně se zkoumá jeho využití jako prekurzoru kyseliny máselné, která zesiluje antiproliferativní účinky dihydrocholecalciferolu v rakovinových buňkách tlustého střeva¹⁰. Ethylpyruvát (obr. 4) má antioxidační a protizánětlivé účinky, inhibuje tvorbu reaktivních forem kyslíku¹¹. Methylsalicylát (obr. 5) a ethylsalicylát (obr. 6) mají antiseptické, protizánětlivé a analgetické účinky.

Účinnost vybraných plastifikátorů byla hodnocena snížením teploty skelného přechodu (T_g) směsi oligoester/plastifikátor oproti neplastifikovanému oligoesteru PLGA-M. Hodnoty T_g získané z druhého ohřevu jsou uvedeny



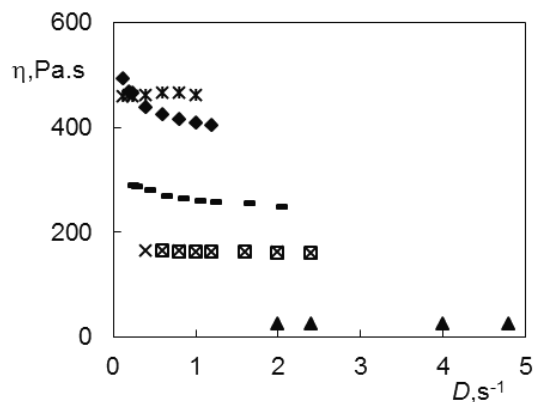
Obr. 5. Methylsalicylát



Obr. 6. Ethylsalicylát

v tab. II. Všechny testované plastifikátory v koncentraci 20 % snížily hodnoty teploty skelného přechodu oligoesteru větveného mannitolem. Nejúčinnějším plastifikátorem byl ethylpyruvát; T_g snížil z hodnoty 24,1 °C na –21,5 °C.

Plastifikací větveného oligoesteru došlo nejen ke snížení teploty skelného přechodu, ale i dynamické viskozity systémů. Plastifikátor zvýší mobilitu řetězců amorfního oligoesteru, které se snadněji orientují ve směru aplikovaného tečného napětí. Se stoupající hodnotou rychlostního spádu klesá odpor vůči tečení, tedy viskozita soustavy. Hodnoty viskozity testovaných směsí oligoesteru a plastifikátoru jsou porovnány na obr. 7. Z obrázku je patrné, že přidávkem triethylcitrátu, ethylpyruvátu, methylsalicylátu nebo ethylsalicylátu v koncentraci 20 % dochází k vytvoření newtonských soustav s konstantní viskozitou. Výhodou plastifikace větveného oligoesteru těmito plastifikátory je, že vlivem různých hodnot rychlostního spádu působících při přípravě a aplikaci se viskozita nemění. Při plastifikaci triacetinem nebo tributyrinem se směs oligoester/plastifikátor chová jako nenewtonská soustava. S rostoucím rychlostním spádem se viskozita snižuje. Z toho plyne doporučení, aby měření viskozity oligoesteru plastifikovaného triacetinem nebo tributyrinem bylo realizováno při



Obr. 7. Viskozitní křivky větveného oligoesteru plastifikovaného různými plastifikátory: D je rychlostní spád, η je dynamická viskozita; *20% triethylcitrát, \blacktriangle 20% ethylpyruvát, \square 20% methylsalicylát, \times 20% ethylsalicylát, – 20% triacetin, \blacklozenge 20% tributyrin

takových hodnotách rychlostního spádu, kterých se dosahuje v praxi, zejména při přípravě polymerního terapeutického systému a jeho aplikaci.

Závěr

Z výsledků termické analýzy vyplývá, že z testovaných plastifikátorů se nejúčinnějším plastifikátorem oligoesteru kyseliny mléčné a kyseliny glykolové, větveného mannitolem, jeví ethylpyruvát. Ethylpyruvát je zároveň nejefektivnější při snižování viskozity oligoesteru. Směs oligoesteru s 20 % ethylpyruvátu je newtonská soustava, jejíž viskozita se s rychlostním spádem působícím při přípravě a aplikaci nemění. Ethylpyruvát má protizánětlivé a antioxidační účinky, proto může být považován za multifunkční plastifikátor, vhodný pro použití v medicíně a farmacii.

Autoři děkují prof. Ing. Štěpánu Podzimekovi (SYNPO a.s., Pardubice) za stanovení molárních hmotností a stupně větvení oligoesterů.

Seznam zkratk

| | |
|--------|---|
| DSC | diferenciální skenovací kalorimetrie |
| SEC | rozměrově vylučovací chromatografie |
| M_w | hmotnostně střední molární hmotnost [g mol^{-1}] |
| PLGA | poly(D,L-laktid-co-glykolid) |
| T_g | teplota skelného přechodu [$^{\circ}\text{C}$] |
| η | dynamická viskozita [Pa s] |

LITERATURA

1. Senichev V. Y, Tereshatov V. V., v knize: *Handbook of Plasticizers* (Wypych G., ed.), kap. 10.6., Elsevier, New York 2012.
2. Murray W.: *Brit. Med. J.* 27, 495 (1867).
3. Rahman M., Brazel, Ch. S.: *Prog. Polym. Sci.* 29, 1223 (2004).
4. Murphy J.: *Additives for Plastics Handbook*, Elsevier, New York 2001.

5. Šnejdrová E., Dittrich M., v knize: *Recent Advances in Plasticizers* (Luqman M., ed.), kap. 3. Intech, Rijeka 2012.
6. Vieira M. G. A., da Silva M. A., dos Santos L. O., Beppu M. M.: *Eur. Polym. J.* 47, 254 (2011).
7. Šnejdrová E., Dittrich M., v knize: *Recent Advances in Plasticizers* (Luqman M., ed.), kap. 4. Intech, Rijeka 2012.
8. Wu Ch., McGinity J. W.: *Int. J. Pharm.* 177, 15 (1999).
9. Šnejdrová E., Dittrich M., Valentová, E.: *Folia Pharm. Univ. Carol.* 35-36, 7 (2007).
10. Gaschott T.: *J. Nutr.* 131, 1839 (2001).
11. Park S. Y., Yi E. Y., Jung M., Lee Y. M., Kim Z. J.: *Cancer Lett.* 303, 150 (2011).

E. Šnejdrová, M. Drastík, and M. Dittrich (Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy, Hradec Králové): Selection of Plasticizer for Branched Oligoesters Used as Drug Carriers

The effect of selected plasticizers (triethyl citrate, ethyl pyruvate, methyl and ethyl salicylate, triacetin, tributyrin) on thermal and rheological properties of the oligoesters of DL-lactic and glycolic acids crosslinked with mannitol was studied. Plasticization of the oligoesters was performed by their fusion at 80 °C and subsequent mixing with a plasticizer in the concentration 20 %. All plasticizers in this concentration were miscible with the oligoesters and the blends did not tend to phase separation. The efficiency of plasticizers was evaluated by lowering the glass transition temperature of the non-plasticized oligoester. All the tested plasticizers proved to be effective. The plasticizers also induced a decrease in dynamic viscosity of the oligoester, which is necessary for the manufacture of oligoesters as drug delivery carriers applied by injection or topically as sprays. Ethyl pyruvate was the most effective plasticizer of the DL-lactic and glycolic oligoesters crosslinked with mannitol.