

Uniwersytet Medyczny

im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wydział Farmaceutyczny

z Oddziałem Analityki Medycznej

Kierunek: Farmacja

Justyna Kobryń

Zastosowanie modyfikowanej strukturalnie skrobi jako substancji nośnikowej wybranych modelowych substancji leczniczych

The structurally modified starch application as a carrier substance for
selected model medicinal substances

Praca doktorska wykonana
w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizycznej i Biofizyki
Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
Promotor pracy: prof. dr hab. Witold Musiał

Wrocław 2023

Streszczenie

Poszukiwania innowacyjnych nośników leków w puli nowo syntetyzowanych lub modyfikowanych polimerów syntetycznych lub pochodzenia naturalnego zajmują znaczący udział we współczesnych badaniach w dziedzinie farmacji. Zaletą substancji pochodzenia naturalnego są: łatwa dostępność, biodegradowalność oraz niska toksyczność. Jedną z interesujących grup polimerów są pochodne skrobi lub celulozy. Modyfikacja natywnych cząsteczek skrobi ma na celu poprawę ich właściwości użytkowych lub nadaje im nowe, specyficzne właściwości wymagane do pożądanego zastosowania. Skrobia modyfikowana jest stosowana między innymi w przemyśle spożywczym, tekstylnym, papierniczym, budowlanym i farmaceutycznym.

Dzięki współpracy z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu otrzymano materiał do badań. Skrobia ziemniaczana natywna została poddana reakcjom: acetylacji bezwodnikiem octowym, sieciowania (cross-linking) z grupami fosforanowymi oraz estryfikacji kwasem cytrynowym.

Celem pracy było porównanie właściwości skrobi modyfikowanych pod kątem ich zastosowania jako nośników wybranych modelowych substancji aktywnych przeznaczonych do aplikacji zewnętrznej.

Praca doktorska obejmuje cykl trzech publikacji dotyczących badań: kinetyki uwalniania β -escyny z hydrożeli na bazie metylocelulozy, Carbopolu® oraz Aristoflexu® Velvet zawierających skrobię acetylowaną i bez niej, kinetyki uwalniania chlorowodoru lidokainy z hydrożelu z metylocelulozą w obecności skrobi cytrynianowej oraz adsorpcji błękitu metylenowego na skrobi acetylowanej, fosforylowanej oraz estryfikowanej kwasem cytrynowym. Do badań wykorzystano metodę farmakopealną uwalniania z dysku przez błonę półprzepuszczalną oraz adsorpcję na stałym nośniku. Odczytano wartości absorbancji fal elektromagnetycznych w zakresie 265 – 663 nm. Wyniki uwalniania przeanalizowano pod kątem modeli kinetycznych zerowego, pierwszego i drugiego rzędu oraz Higuchi'ego. Wyniki adsorpcji badano zgodnie z kinetyką pseudo pierwszego i pseudo drugiego rzędu. Test statystyczny ANOVA przeprowadzono dla grup niezależnych przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Do analizy procesów adsorpcji przyjęto modele izoterm Freundlicha, Langmuira oraz BET.

Dodatkowo, badane skrobie zostały poddane analizie fizyko-chemicznej, spektralnej oraz termicznej w celu ustalenia ich właściwości oraz identyfikacji interakcji między nośnikami a substancjami aktywnymi. Zostały wykonane potencjometryczne pomiary pH oraz zbadana lepkość dynamiczna za pomocą wiskozymetru Höpplera. Do badań skrobi oraz ich połączeń z błękitem metylenowym oraz chlorowodorkiem lidokainy wykorzystano metodę podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Analizę stopnia krystaliczności preparatów skrobiowych dokonano za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej (PXRD). Badane preparaty skrobi modyfikowanych zostały poddane analizie skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) w celu zbadania stabilności termicznych modyfikowanych skrobi w porównaniu do skrobi natywnej. Metodę skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) wykorzystano również do potwierdzenia bądź odrzucenia interakcji istniejących między badanymi związkami. Zostały wykonane zdjęcia SEM skrobi charakteryzujących się najlepszymi cechami potencjalnych nośników substancji aktywnych.

Wyniki badań wykazały różnorodność badanych skrobi pod kątem stopnia krystaliczności, stabilności termicznej oraz zdolności adsorpcyjnych. Zaobserwowano wpływ temperatury hartowania skrobi, rodzaju podstawników na ich stabilność termiczną. Wykazano, że skład podłoży hydrożelowych ma wpływ na prolongację uwalniania β -escyny przy współudziale acetylowanej skrobi. Najdłuższy proces uwalniania uzyskano w hydrożelu z Carbopolu[®] zawierającym octan skrobi. Zaproponowano powstanie wiązania wodorowego między grupą karboksylową β -escyny oraz grupą acetylową octanu skrobi. W przypadku preparatów z Aristoflexem[®] Velvet istniało przypuszczenie silnego oddziaływanie β -escyny z polimerem hydrożelowym, najprawdopodobniej poprzez wiązania amidowe. Bardzo obiecujące cechy nośników uwidoczniły się w przypadku skrobi modyfikowanych kwasem cytrynowym. Wśród nich nie wykazano jednoznacznych zależności od wzrostu temperatury i stopnia podstawienia. Obecność skrobi modyfikowanych kwasem cytrynowym w 5% w temperaturze 140 °C w hydrożelu z metylocelulozy spowodowała największe spowolnienie uwalniania chlorowodorku lidokainy, co mogło wynikać ze sferycznej budowy cząstek. Badania DSC wykazały przesunięcia pików termogramów świadczących o możliwej interakcji między skrobiami modyfikowanymi kwasem cytrynowym w 2,5 i 5% w temperaturze 120 °C a chlorowodorkiem lidokainy. Badania adsorpcji błękitu metylenowego na skrobi wykazały zaadsorbowanie

największej ilości adsorbentu na skrobi modyfikowanych kwasem cytrynowym w 10% w temperaturze 100 °C w porównaniu do skrobi natywnej, skrobi acetylowanej oraz difosforanu skrobi. Również obraz termogramów w badaniach DSC oraz dyfraktogramów w XRPD świadczył o najbardziej amorficznym charakterze skrobi modyfikowanej kwasem cytrynowym w 10% w temperaturze 100 °C w porównaniu do skrobi natywnej, skrobi acetylowanej oraz difosforanu skrobi. Amorficzność cząstek skrobi mogła mieć wpływ na ich większą mobilność i plastyczność w obecności wody. Badania te wykazały również najmniejszą stabilność termiczną cytrynianu skrobi w porównaniu do pozostałych skrobi. Dodatkowo, analiza DSC i FTIR wykazały prawdopodobieństwo wystąpienia interakcji między skrobią cytrynianową a chlorowodorkiem lidokainy i błękitem metylenowym.

Summary

The search for innovative drug carriers in the pool of newly synthesized or modified synthetic or natural-derived polymers occupies a significant share in modern pharmaceutical research. The advantages of substances of natural origin are easy availability, biodegradability and low toxicity. One of the interesting groups of polymers are starch or cellulose derivatives. Modification of native starch molecules is aimed at improving their functional properties or giving them new, specific properties required for the desired application. Modified starch is used in the food, textile, paper, construction and pharmaceutical industries, among others.

Thanks to cooperation with the Wrocław University of Life Sciences, the material for the study was obtained. Native potato starch was subjected to the following reactions: acetylation with acetic anhydride, cross-linking with phosphate groups and esterification with citric acid.

The goal of the work was to compare the properties of modified starches for their use as carriers of selected model active substances for external application.

The doctoral thesis includes a series of three publications on the study of: the kinetics of β -escin release from methylcellulose-based, Carbopol® and Aristoflex® Velvet hydrogels containing acetylated starch or without it, the kinetics of lidocaine hydrochloride release from methylcellulose hydrogel in the presence of citrate starch, and the adsorption of methylene blue on acetylated, phosphorylated and citric acid esterified starch. The pharmacopoeial method of release from a disk through a semipermeable membrane and adsorption on a solid carrier were used for the study. Absorbance values of electromagnetic waves in the range of 265 - 663 nm were read. The release results were analyzed in terms of zero-order, first-order, second-order and Higuchi kinetic models. Adsorption results were studied according to pseudo first-order and pseudo second-order kinetics. ANOVA statistical test was carried out for independent groups at a significance level of $\alpha = 0.05$. Freundlich, Langmuir and BET isotherm models were adopted to analyze adsorption processes.

In addition, the tested starches were subjected to physico-chemical, spectral and thermal analysis to determine their properties and identify interactions between carriers and active substances. Potentiometric measurements of pH were made and dynamic viscosity was studied using a Höppler viscometer. Fourier transform infrared (FTIR) was used to study starches and their combinations with methylene blue and lidocaine hydrochloride. The degree of crystallinity of the starch preparations was analyzed by X-ray diffraction (PXRD). The tested

modified starch preparations were subjected to differential scanning calorimetry (DSC) analysis to study the thermal stability of the modified starches compared to native starch. The DSC method was also used to confirm or reject interactions existing between the compounds under study. SEM images of starches characterized by the best features of potential carriers of active substances were taken.

The results showed the diversity of the tested starches in terms of degree of crystallinity, thermal stability and adsorption capacity. The influence of the quenching temperature of the starches, the type of substituents on their thermal stability was observed. It was shown that the composition of hydrogel substrates affects the prolongation of β -escin release with the participation of acetylated starch. The longest release process was obtained in Carbopol® hydrogel containing starch acetate. The formation of a hydrogen bond between the carboxyl group of β -escin and the acetyl group of starch acetate was suggested. In the case of Aristoflex® Velvet formulations, there was a presumed strong interaction of β -escin with the hydrogel polymer, most likely through amide bonds. Very promising features of the carriers became apparent in the case of citric acid-modified starches. Among them, no clear dependence on temperature increase and degree of substitution was shown. The presence of citric acid-modified starches at 5% at 140 °C in a methylcellulose hydrogel caused the greatest slowdown in the release of lidocaine hydrochloride, which could be due to the spherical structure of the particles. DSC studies, however, showed shifts in the peaks of the thermograms indicating a possible interaction between starch modified with citric acid at 2.5 and 5% at 120 °C and lidocaine hydrochloride. Adsorption studies of methylene blue on starch showed adsorption of the largest amount of adsorbate on starch modified with citric acid at 10% at 100 °C compared to native starch, acetylated starch and starch diphosphate. Also, the image of thermograms in DSC and XRPD diffractograms showed the most amorphous nature of the starch modified with citric acid at 10% at 100 °C compared to native starch, acetylated starch and starch diphosphate. The amorphous nature of the starch particles may have influenced their greater mobility and plasticity in the presence of water. The study also showed the least thermal stability of starch citrate compared to the other starches. In addition, DSC and FTIR analysis showed the likelihood of interaction between citrate starch and lidocaine hydrochloride and methylene blue.