

Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Analityki Medycznej



**Otrzymywanie oraz wybrane właściwości
żeli hydrofilowych z frakcją liposomową
z dobezylanem wapnia**

Ewa Zofia Pilch

Rozprawa doktorska
streszczenie

Promotor: prof. dr hab. Witold Musiał

Wrocław 2019

Streszczenie

Zmniejszenie częstotliwości podawania oraz bardziej efektywne działanie substancji leczniczej podanej w postaci o kontrolowanym uwalnianiu wpływa na poprawę współpracy pacjenta z personelem medycznym. W leczeniu stosuje się systemy terapeutyczne np. transdermalne hydrożelowe postaci leku zawierające m.in. biodegradowalne nośniki polimerowe w skali mikro i nano w celu uzyskania kontrolowanego uwalniania substancji aktywnej. W badaniach farmaceutycznych jako klasyczny modelowy żel hydrofilowy odniesienia bywa używana metyloceluloza. Ten biokompatybilny polimer podlega termoodwracalnemu żelowaniu w roztworze wodnym. W niskich temperaturach zachodzi pęcznienie metylocelulozy i utworzenie formy żelowej. Podczas ogrzewania dochodzi do zniekształcenia struktury tego polimeru i wytworzenia agregatów wpływających m.in. na reologię otrzymanych postaci leku. Ciekawym rozwiązaniem technologicznym są żele hydrofilowe wzbogacone o liposomy. Liposomy wykazują zdolność do zorganizowanej i dobrze określonej enkapsulacji substancji leczniczej w swojej strukturze. W literaturze opisywany jest szereg modyfikacji strukturalnych liposomów. Zastosowanie etosomów, zawierających znaczną zawartość alkoholu, jako nośniki substancji leczniczej często poprawia penetrację tych substancji poprzez struktury skóry i błon śluzowych. Na mechanizm działania etosomów składa się efekt etanolowy oraz efekt etosomowy.

Dobezylan wapnia, jedna z nielicznych syntezowanych w Kraju substancji leczniczych, wykazuje aktywność leczniczą w leczeniu retinopatii i nefropatii cukrzycowej oraz przewlekłej niewydolności żylnej. Zmniejsza przepuszczalność naczyń włosowatych, agregację płytek krwi oraz lepkość krwi, wpływając także na transport limfatyczny. Słabo rozpuszcza się w środowisku kwaśnym żołądka oraz stosunkowo łatwo ulega procesom oksydacji w lekko zasadowym środowisku dwunastnicy co powoduje, że doustne stosowanie dobezylanu wapnia w leczeniu jest nieefektywne. Do rzadko występujących najczęstszych działań niepożądanych po zastosowaniu *per os* dobezylanu wapnia należą objawy takie jak gorączka, dreszcze, agranulocytoza, nudności i wymioty, wysypka rumieniowata, biegunka, ból głowy i brzucha czy bóle mięśniowe. Zwiększenie efektywności i bezpieczeństwa terapii można uzyskać stosując formy dożylnie, a także miejscowe na skórę. W trakcie wytwarzania hydrożeli zawierających dobezylan wapnia występują trudności technologiczne ze względu na interakcje jonowe pomiędzy grupami funkcyjnymi stosowanych polimerów a substancją aktywną.

Celem pracy było otrzymanie i ocena wybranych właściwości żeli hydrofilowych z frakcją liposomową z dobezylanem wapnia. Otrzymane metodą uwodnienia cienkiego filmu lipidowego liposomy zostały poddane ocenie ze względu na zróżnicowane parametry fizyczne i chemiczne. Przeprowadzono ocenę kinetyki uwalniania substancji leczniczej metodą łopatkową z wykorzystaniem komór ekstrakcyjnych, pomiar średnicy hydrodynamicznej liposomów z zastosowaniem metody dynamicznego rozproszenia światła, wizualizację morfologii liposomów z zastosowaniem mikroskopii optycznej, badanie właściwości spektralnych w bliskiej podczerwieni oraz ocenę właściwości termicznych preparatów.

Otrzymano szereg preparatów z dobezylanem wapnia o właściwościach umożliwiających potencjalne zastosowanie na powierzchnię skóry i błon śluzowych. Wśród nich trzy stanowiły proste preparaty hydrożelowe, w których dobezylan wapnia pozostawał w rozproszeniu molekularnym. Następne pięć preparatów hydrożelowych z dobezylanem wapnia zawierało liposomy. Pozostałe cztery preparaty z dobezylanem wapnia zawierały liposomy rozproszone w rozpuszczalniku. W trakcie liofilizacji z powodu trudności technologicznych odrzucono jeden preparat hydrożelowy (ML) i w konsekwencji pozostałe jedenaście preparatów poddano badaniom fizykochemicznym takim jak spektroskopia fourierowska w podczerwieni, termograwimetria i różnicowa kalorymetria skaningowa.

Zastosowanie liposomów w postaciach leku podawanych na skórę i błony śluzowe zwiększa penetrację substancji aktywnej przez błony biologiczne. Liposomy z frakcją etanolową wykazują znaczną przewagę w biodostępności nad klasycznymi liposomami ze względu m.in. na zwiększenie rozpuszczalności substancji aktywnej, korzystny wpływ na plastyczność postaci leku oraz poprawę penetracji przez warstwy skóry.

W szeregu prowadzonych badań wykazano wpływ zawartości etanolu w próbce na procesy uwalniania substancji leczniczej oraz na właściwości fizykochemiczne otrzymanych preparatów. Alkohol etylowy w sposób zależny od stężenia wpływa na stabilność układu hydrożelowego z frakcją liposomową. Badanie kinetyki uwalniania, prowadzone w temp. 37°C w aparacie łopatkowym firmy Erweka, wykazało, że hydrożele zawierające 20% etanolu są stabilne i homogeniczne. Charakteryzują się wysokimi współczynnikami korelacji dla zastosowanych modeli kinetycznych. Wyższe stężenia etanolu wpływają na zmniejszenie lepkości układu i zaburzenie struktury polimerowej. Wyliczony według modelu Korsmeyer'a-Peppas'a czynnik n , o wartości ok. 0,5, sugeruje niezgodny z prawem Ficka lub anomalny mechanizm uwalniania CD z matrycy polimerowej.

W trakcie obserwacji mikroskopowej wykazano, że obecność metylocelulozy w układzie wpływa na zmniejszenie agregacji liposomów przy jednoczesnej deformacji ich

kształtu, wynikającej ze znacznej osmolarności środowiska zewnętrznego. W środowisku wodnym liposomy ze względu na niską osmolarność układu zachowują kształt sferyczny. W analizie spektralnej otrzymanych próbek zaobserwowano poszerzenie i spłaszczenie pików w zakresie długości fali 3000 – 3600 cm^{-1} . Ponadto zaobserwowano, że w gotowych preparatach z frakcją liposomową nie występował pik od lecytyny sojowej przy 1725 cm^{-1} co może wynikać z hydrolizy wiązań estrowych lecytyny sojowej łączących resztę kwasu fosforanowego i cholinę z resztą glicerolową.

W trakcie prowadzonych badań wykazano, że zastosowanie wodno-alkoholowego roztworu dobezylanu wapnia jako roztworu dyspergującego film lipidowy umożliwia otrzymanie żeli hydrofilowych z frakcją liposomową. Sonifikacja jako metoda homogenizacji liposomów skutkuje wytworzeniem polidispersyjnej zawiesiny liposomów. Dodatek etanolu zwiększa szybkość uwalniania dobezylanu wapnia z sieci polimerowej hydrożelu, a jego zawartość w stężeniu 20% poprawia stabilność układu hydrożelowego z frakcją liposomową. Najlepiej dopasowanym modelem kinetycznym dla przebiegu uwalniania CD z otrzymanych żeli hydrofilowych okazał się model Higuchi'ego. Struktura żelu metylocelulozowego zapobiega agregacji liposomów, jednakże wpływa również na ich deformację ze względu na wysoką osmolarność układu. Liposomy zawierające etanol są utrzymywane w formie sferycznej dzięki długołańcuchowym kwasom tłuszczowym lub ich solom.