

Hybrid polylactide composites for medical applications**Hybrydowe kompozyty PLA do zastosowań medycznych**Please cite as: *Przem. Chem.* 2013, **92**, 11, 2006.

Porous hydroxyapatite/polylactide composites (used as implants of bone tissue) were impregnated with a soln. of ibuprofen, coated with a polylactide film (30 μm) and studied for drug release rate to a buffer soln. (pH 7.2). Similarly, transparent polylactide ibuprofen-contg. films filled with a nanoclay or modified with addn. of poly(ethylene glycol) were studied for the drug release rate to a buffer soln. (pH 5.5). The drug release kinetics was correlated with model equations. Both systems were found suitable for practical use as drug carriers.

Przedstawiono wyniki badań kinetyki uwalniania substancji aktywnej ze struktur polimerowych w formie skafoldów (układów porowatych do implantacji tkanki kostnej) oraz filmów (systemów transdermalnych) do uwalniania leku. Jako substancji wzorcowej do analizy kinetyki uwalniania użyto ibuprofenu. Jest to substancja o działaniu przeciwbólowym oraz przeciwzapalnym. Nośniki leków zostały wytworzone z polilaktydu. Badaniu poddano układy o różnej zawartości substancji aktywnej, a także modyfikowane poprzez dodatki polimerowe oraz pokrycie zewnętrznymi warstwami ochronnymi.

Polilaktyd (PLA) należy do grupy poliestrów alifatycznych. Rosnąca popularność tego polimeru wynika z jego dobrych właści-

wości mechanicznych, biodegradowalności oraz naturalnych źródeł pochodzenia. PLA wykorzystywany jest przede wszystkim w przemyśle opakowaniowym oraz w zastosowaniach medycznych, jako materiał do produkcji: biodegradowalnych nici chirurgicznych, implantów w formie porowatych struktur zwanych skafoldami, a także nośników leków do kontrolowanego uwalniania (*control drug release*), takich jak filmy (systemy transdermalne)¹⁻⁵, które obecnie zyskują coraz większe zainteresowanie, ze względu na nisko inwazyjne działania uboczne, stanowiąc alternatywę dla standardowych form dostarczania leku. Materiały te to płaskie, elastyczne, wielowarstwowe układy, zawierające jedną lub więcej substancji aktywnych. Skafoldy z PLA mają dobre właściwości mechaniczne, dzięki czemu mogą być wykorzystywane jako implanty tkanki kostnej. Nanododatki w formie soli wapnia i fosforu, takich jak hydroksyapatyt (HAp), wpływają na przyspieszenie procesów osteokonduktywnych. Dodatek w postaci nanoglinki (Cloisite 30B) ma na celu poprawienie właściwości mechanicznych oraz zwiększenie barierowości badanego układu. Obecność montmorillonitu spełnia funkcję dodatkowej przeszkody dla dyfuzji substancji aktywnej do otaczającego medium (bufor, pH 5,5). PLA to poliester będący jednym z bardzo obiecujących syntetycznych tworzyw biodegradowalnych. W literaturze omawiane są różne formy uwalniania leku, w tym mikrosfery⁶, rurki⁷, filmy⁸ i nanocząstki⁹, wykonane z PLA z odpowiednią modyfikacją kompozycji polimerowej. Ponadto PLA charakteryzuje się bardzo dobrymi właściwościami optycznymi i fizycznymi. Odznacza się także możliwością chemicznego recyklingu i kompostowania.

Celem pracy było zbadanie kinetyki uwalniania ibuprofenu z wybranych nośników PLA w formie skafoldów oraz filmów. Badano wpływ dodatków polimerowych oraz nałożonej zewnętrznej warstwy ochronnej na szybkość uwalniania modelowej substancji z wytworzonych układów.



Prof. dr hab. Maria MUCHA w roku 1960 ukończyła studia na Wydziale Matematyczno-Fizyczno-Chemicznym Uniwersytetu Łódzkiego. W 1970 r. uzyskała stopień doktora nauk technicznych na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej. W 1987 r. uzyskała stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk chemicznych na tym samym Wydziale. W 2002 r. uzyskała tytuł profesora w dziedzinie nauk technicznych na Politechnice Łódzkiej. Od 2010 r. jest profesorem zwyczajnym na Wydziale Politechnicznym Państwowej Szkoły Zawodowej im. Wojciechowskiego w Kaliszu. Specjalność – termodynamika procesowa.

* Autor do korespondencji:

Katedra Termodynamiki Procesowej, K-106, Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 213/215, 90-924 Łódź, tel.: (42) 631-37-85, fax: (42) 636-56-63, e-mail: muchama@wipos.p.lodz.pl



Mgr inż. Iwona MICHALAK w roku 2008 ukończyła studia na Wydziale Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej, kierunek inżynieria procesowa i chemiczna. W 2010 r. ukończyła studia podyplomowe z Bezpieczeństwa i Higieny Pracy na Wydziale Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej. Od 2008 r. jest doktorantką tej uczelni. Specjalność – inżynieria produkcji.

Część doświadczalna

Materiały

Filmy oraz skafoldy wytworzone zostały z polilaktydu (PLA) typ HM 1011, dostarczonego przez firmę Hycail (Holandia), o temperaturze zeszklenia T_g 62,5°C. Modelową substancją aktywną stanowił ibuprofen (IBU) z firmy Cardinal Pharma Trade Ltd. Stosowany jest w medycynie jako lek przeciwbólowy, przeciwgorączkowy i przeciwzapalny. Jest dobrze rozpuszczalny w rozpuszczalnikach organicznych, a w roztworze z PLA w dichlorometanie rozproszony jest cząsteczkowo (nie krystalizuje w stałej postaci). Hydroksyapatyt ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) stanowiący dodatek do skafoldów wyprodukowała firma Riedel-de Haen. Cloisite 30B (organicznie modyfikowana nanoglinka) pochodziła z firmy Rockwood Additives. Zastosowany w pracy poli(glikol etylenowy) PGA 1500 pochodził z firmy Roth.

Metodyka badań

Skafoldy przygotowano w ten sposób, że do roztworu PLA w dichlorometanie wprowadzono 1% hydroksyapatytu (w stosunku do masy polimeru). Roztwór poddano mieszanemu ultradźwiękowemu do celu dobrego rozdyspersowania HAP w roztworze, a następnie odparowano rozpuszczalnik, uzyskując kompozyt HAP/PLA. Próbkę suszone były w temp. 60°C, a na podstawie analizy w podczerwieni nie zaobserwowano śladów rozpuszczalnika w otrzymanych układach. Skafoldy (do implantacji kości) uzyskano metodą wymywania soli (*salt leaching*) polegającą na wprasowaniu pod dużym ciśnieniem kryształów soli NaCl w stop kompozytu HAP/PLA, a następnie na wypłukaniu ich w kąpieli wodnej. Stosunek masowy NaCl/PLA w procesie wytwarzania to 2:1, natomiast porowatość otrzymanych układów wynosiła 88%. Lek (w ilości 1% w stosunku do masy polimeru) został wprowadzony do 1-proc. roztworu PLA, tworząc warstwę okrywającą w porach skafoldu (w procesie impregnacji próżniowej). W celu spowolnienia procesu uwalniania leku skafoldy zostały pokryte dodatkowymi warstwami kontrolnymi z PLA o grubości 5 i 10 μm . Grubość warstwy była zależna od czasu impregnacji. Oszacowano ją, znając przyrost masy układu w trakcie procesu impregnacji oraz jego powierzchnię (a następnie potwierdzono mikroskopowo dla próbek w przekroju poprzecznym). W celu kontroli kinetyki uwalniania skład warstwy modyfikowano, wprowadzając do PLA poliglikol PGA (10% mas.). Badanie uwalniania leku ze skafoldów prowadzono w środowisku o pH 7,2 (wnętrze ciała ludzkiego). Na rys. 1 przedstawiono mikrofotografię otrzymanej struktury z PLA.

Filmy (systemy transdermalne) PLA otrzymano poprzez wylanie 3-proc. roztworu PLA w dichlorometanie. Do roztworu PLA bezpośrednio wprowadzono substancję aktywną w stosunku masowym 9:1. Po odparowaniu rozpuszczalnika otrzymano przezroczyste filmy o grubości 80 μm i zawartości leku 10%. Na przygotowane układy nałożono zewnętrzne warstwy kontrolne (o grubości 30 μm) w celu spowolnienia uwalniania ibuprofenu. Dodatkowo modyfikowano filmy polimerowe poprzez dodatek nanoglinki. Do roztworu PLA wprowadzono Cloisite 30B (2% masy polimeru). W celu rozdyspersowania nanoglinki roztwór

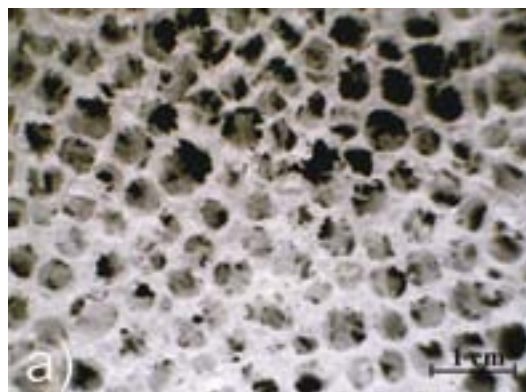


Fig. 1. Microphotogram of poly(lactide) scaffold

Rys. 1. Mikrofotografia skafoldu z PLA

poddano działaniu ultradźwięków. Do roztworu Cloisite 30B w PLA wprowadzono ibuprofen. Całość poddano mieszanemu, a następnie odparowaniu rozpuszczalnika. Tak przygotowane układy poddano badaniu uwalniania substancji aktywnej w buforze o pH 5,5 (na powierzchni skóry).

Uwalnianie substancji czynnej prowadzono w naczyniu zawierającym 50 cm^3 roztworu buforu o pH 7,2 (skafoldy) oraz pH 5,5 (filmy). Badanie prowadzono w temp. 35°C. Do układu wprowadzono badane matryce o znanych wymiarach i masie zawierające ibuprofen. Ciecz wraz z zanurzoną matrycą poddawano mieszanemu za pomocą mieszadła magnetycznego. W określonych odstępach czasu pobierano próbkę roztworu, którą następnie analizowano w kwarcowej kuwecie spektrofotometru UV-Vis. Na podstawie zmian absorbancji w charakterystycznym paśmie (ibuprofen 222,0 nm i 264,4 nm) oznaczano stężenie substancji modelowej (rys. 2). Krzywe wzorcowe wyznaczono uprzednio.

Na podstawie uzyskanych danych doświadczalnych wykonano wykresy szybkości uwalniania leku (f_t) w funkcji czasu (t). Następnie dla uzyskanych wartości dopasowano odpowiedni model matematyczny^{10, 11}). Uzyskane dane doświadczalne dla kinetyki uwalniania ibuprofenu ze skafoldów dopasowano modelem kinetyki I rzędu. Model ten prezentuje równanie (1):

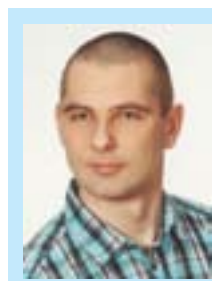
$$f_t = f_{t_{maks}} \cdot (1 - e^{-k_1 t}) \quad (1)$$

w którym f_t oznacza parametr reprezentujący udział leku uwolnionego w czasie t , $f_t = C/C_0$, C_0 początkowe stężenie leku w układzie, C_t stężenie leku uwolnionego z matrycy po czasie t , k_1 stała kinetyczna I rzędu procesu uwalniania, $1/h$, a $f_{t_{maks}}$ oznacza maksymalną ilość leku uwolnioną w procesie.

Wartości doświadczalne dla kinetyki uwalniania substancji aktywnej z filmów PLA dopasowano modelem dwuetapowym, który prezentuje równanie (2):

$$f_t = f_b \cdot (1 - e^{-k_1 t}) + (f_{t_{maks}} - f_b) \cdot \left(\frac{e^{k_2 \cdot (t - t_{2_{maks}})}}}{1 + e^{k_2 \cdot (t - t_{2_{maks}})}} \right) \quad (2)$$

w którym f_t oznacza ułamek uwolnionej substancji w czasie t , $f_{t_{maks}}$ maksymalną ilość uwolnionego leku podczas całego procesu, f_b ilość leku uwolnionego podczas pierwszego etapu uwalniania (*1st stage of release* – efekt wybuchu, tzw. *burst effect*), k_1 stałą kinetyki pierwszego rzędu, $1/h$, k_2 stałą kinetyki drugiego etapu uwalniania (*2nd stage of release*), $1/h$, a $t_{2_{maks}}$ oznacza czas do maksymalnego uwolnienia leku w drugim etapie uwalniania, h. Graficzną interpretację modelu I rzędu i modelu dwuetapowego zaprezentowano na rys. 3a i 3b. Dla skafoldów przeprowadzono analizę wpływu grubości warstwy okrywającej oraz jej składu na szybkość uwalniania leku.



Dr inż. Michał TYLMAN w roku 2008 ukończył studia na Wydziale Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej, kierunku inżynieria środowiska. W 2013 r. uzyskał stopień doktora nauk technicznych tej uczelni. Obecnie jest asystentem w Katedrze Termodynamiki Procesowej K-106 Politechniki Łódzkiej. Specjalność – biotechnologia środowiska.

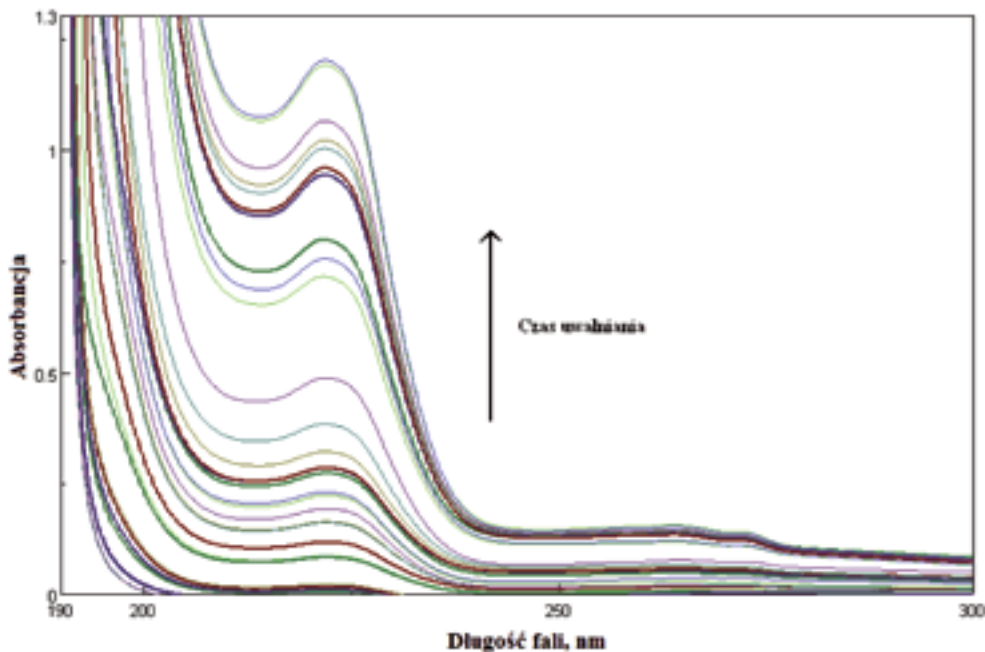


Fig. 2. Changes in absorbance in the characteristic ibuprofen band during release (up to 300 h)

Rys. 2. Zmiany absorancji w charakterystycznym paśmie ibuprofenu w procesie uwalniania (czas do 300 h)

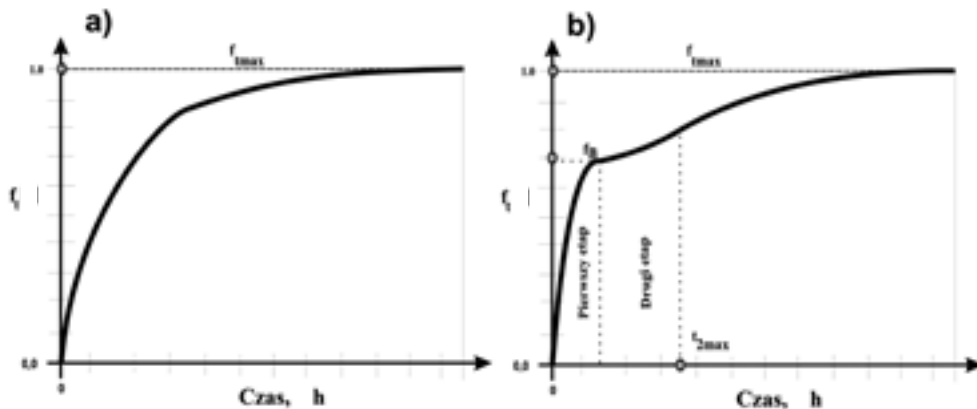


Fig. 3. Graphic presentation of kinetics a) 1 order, 2-step model

Rys. 3. a) Graficzny obraz dla modelu kinetyki I rzędu oraz b) modelu dwuetapowego

Wyniki badań

Na rys. 4 przedstawiono krzywe kinetyczne uwalniania ibuprofenu ze skafoldów pokrytych: a) warstwami ochronnymi PLA o różnej grubości, b) warstwami o różnym składzie. W tabeli 1 zestawiono parametry kinetyczne procesu uwalniania IBU ze skafoldów pokrytych warstwami ochronnymi. Analiza kinetyki uwalniania ze skafoldów wykazała, że znaczna część leku znajdującego się w skafoldzie została przetransportowana do roztworu impregnującego w procesie nakładania warstw ochronnych. Utrata leku w procesie impregnacji wyniosła 19 i 35% dla skafoldów pokrytych warstwą o grubości odpowiednio 5 i 10 μm . Proces uwalniania przebiegał z widocznym etapem *burst effect* (efekt wybuchu) i ponad 80% leku zostało uwolnione przez pierwsze 5 min procesu. Pokrycie warstwami ochronnymi opóźniło proces uwalniania. Modyfikacje warstwy okrywającej poprzez dodanie PGA spowodowało przyspieszenie procesu uwalniania w stosunku do warstwy okrywającej z czystego PLA. Hydrofilowe właściwości

PGA przyspieszyły tempo dezintegracji warstwy, przez co lek został uwolniony szybciej niż z układu z warstwą ochronną z hydrofobowego PLA.

Otrzymane wyniki uwalniania ibuprofenu z filmów PLA mogły zostać opisane jako proces złożony. W modelu dwuetapowym proces uwalniania był przedstawiany jako zestawienie uwalniania z powierzchni układu (*burst effect*) oraz uwalniania z objętości (*bulk matrix*), które było spowodowane degradacją polimeru. *Burst effect* pojawił się we wczesnej fazie uwalniania i był charakterystyczny dla kinetyki I rzędu. Po tym etapie pojawiła się dyfuzja cząsteczek IBU do otaczającego medium, której towarzyszyła degradacja hydrolytyczna (pęcznienie) matrycy polimeru oraz relaksacja łańcucha polimerowego. W celu kontroli uwalniania filmy modyfikowano poprzez nałożenie zewnętrznej warstwy kontrolnej o grubości ok. 30 μm (rys. 5b) oraz poprzez wprowadzenie nanoglinki (rys. 5a). Nałożenie zewnętrznej warstwy kontrolnej PLA przeprowadzono w celu kontroli uwalniania ibuprofenu, a tym samym złagodzenia zjawiska wybuchu. Wprowadzenie do filmu PLA dodatku Cloisite 30B w postaci modyfikowanego montmorylonitu miało na celu poprawę barierowości układu oraz wydłużenie czasu uwolnienia leku w pierwszym etapie procesu i tym samym miało powodować regularne w czasie dostarczanie substancji aktywnej do organizmu przez dyfuzję poprzez skórę. Przeprowadzona modyfikacja badanych filmów ma prowadzić do kontroli uwalniania. Wyniki dopasowania zaprezentowano na rys. 5.

W tabeli 2 przedstawiono parametry kinetyczne procesu uwalniania IBU z modyfikowanych filmów PLA. Nałożenie zewnętrznej warstwy kontrolnej PLA powodowało obniżenie szybkości uwalniania leku w pierwszym etapie procesu uwalniania ($k_1 = 0,020$ dla filmu bez warstwy oraz $k_1 = 0,007$ dla filmu z warstwą). Nałożenie zewnętrznej warstwy kontrolnej znacznie obniżyło ilość uwolnionego IBU w pierwszym etapie uwalniania ($f_b = 0,30$ dla filmu z warstwą oraz $f_b = 0,60$ dla filmu PLA bez warstwy kontrolnej). Zaobserwowano jednocześnie znaczne przyspieszenie szybkości uwalniania w drugim etapie procesu ($k_2 = 0,04$ dla filmu bez warstwy i $k_2 = 0,060$

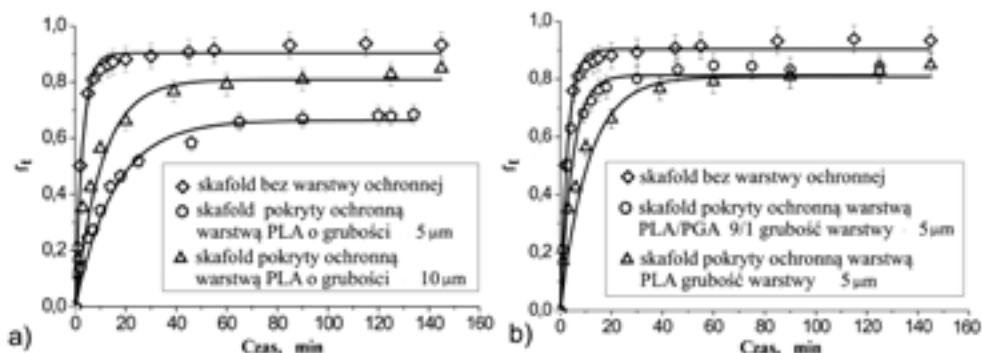


Fig. 4. Kinetic curves of ibuprofen released from coated scaffolds a) various thickness, b) various composition

Rys. 4. Krzywe kinetyczne uwalniania ibuprofenu ze skafoldów pokrytych warstwą ochronną: a) różnej grubości, b) o różnym składzie

Table 1. Kinetic parameters of release from protectively coated scaffolds

Tabela 1. Parametry kinetyczne uwalniania ibuprofenu ze skafoldów pokrytych warstwami kontrolnymi

Skafold wysalany	Parametry modelu kinetyki I rzędu		
	$f_{t\text{maks}}$	k , 1/min	r^2
Bez warstwy	0,903	0,347	0,988
Warstwa 5 μm PLA	0,812	0,095	0,985
Warstwa 10 μm PLA	0,664	0,064	0,983
Warstwa 5 μm PGA/PLA	0,809	0,213	0,978

riału, które wskazują na miejsca w których znajdował się IBU przed procesem uwalniania.

Wnioski

Ze skafoldów otrzymanych z PLA metodą wysalania substancja aktywna uwalniana była szybko w początkowym okresie procesu. Było to związane z powierzchniowym usytuowaniem leku. Pokrycie skafoldów warstwami ochronnymi powodowało nieznaczne spowolnienie procesu, jednakże sam proces nakładania warstw ochronnych (impregnacja próżniowa) powodował utratę znacznej części leku znajdującego się w matrycy. Przeprowadzone badania wykazały, że skafoldy wykonane z PLA metodą wysalania mogą być stosowane jako nośniki leków o krótkim działaniu (uwalnianych w początkowym okresie regeneracji, od razu po procesie implantacji).

Uzyskane wyniki uwalniania ibuprofenu z filmów PLA dopasowano modelem dwuetapowym. W krótkim czasie obserwowano uwalnianie z warstwy powierzchniowej filmu (I etap). W drugim etapie szybkie uwalnianie związane było z hydrolizą matrycy i relaksacją łańcucha biopolimeru.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że nałożenie zewnętrznej warstwy kontrolnej PLA powodowało obniżenie szybkości uwalniania leku w pierwszym etapie procesu. Zewnętrzna warstwa kontrolna znacznie obniżyła ilość uwolnionego ibuprofenu w pierwszym etapie uwalniania. Obserwowano także wydłużenie czasu, jaki pozostał do maksymalnego uwolnienia leku w drugim etapie procesu. Dodatek nanoglinki także powodował wydłużenie czasu do maksymalnego uwolnienia leku. Dodatek nanoglinki w ilości 2% znacznie obniżył ilość uwolnionego IBU w pierwszym etapie uwalniania oraz wpływał na znaczne obniżenie szybkości uwalniania IBU. Nałożenie zewnętrznej warstwy kontrolnej PLA znacznie wpłynęło na kontrolę uwalniania ibuprofenu, a tym samym złagodziło zjawisko wybuchu. Wprowadzenie do filmu PLA dodatku Cloisite 30B w postaci modyfikowanego montmorylonitu poprawiło barierowość układu oraz wydłużyło czas uwolnienia leku. Transparentny film PLA z dodatkiem IBU oraz badania DSC (brak pików topnienia ibuprofenu w mieszaninie, IBU powoduje plastyfikację PLA, obniżając jego temperaturę zeszklenia) wskazują na równomierne i cząsteczkowe rozdypersowanie leku w całej objętości badanego układu. Mikrofotografia filmu PLA po zakończeniu procesu uwalniania ibuprofenu przedstawia strukturę polimeru z licznymi ubytkami, które wskazują na miejsca, z których został uwolniony IBU w procesie destrukcji PLA.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (NCN), Grant nr 2011/01/N/ST8/02323 oraz grant nr 2011/01/B/ST8/06697.

Otrzymano: 17-04-2013

LITERATURA

1. C.S. Proiakakis, P.A. Tarantili, A.G. Andreopoulos, *Eur. Polym. J.* 2006, **42**, 3269.
2. P.A. Tarantili, H. Koumoulos, *Eur. Polym. J.* 2008, **44**, 444.
3. M. Mucha, M. Michalak, J. Balcerzak, M. Tylman, *Polimery* 2012, **57**, 714.
4. M. Mucha, M. Tylman, *Adv. Materials Res.* 2012, **488**, 681.
5. M. Mucha, M. Michalak, *Carbohydrate Polymers* 2012, **87**, 2432.
6. Baras, M.-A. Benoit, J. Gillard, *Int. J. Pharm.* 2000, **200**, 133.
7. M. Gumusderelioglu, G. Deniz, *J. Biomater. Sci.* 2000, **11**, 1039.
8. D. Sendil, D.L. Wise, V. Hasirci, *J. Biomater. Sci.* 2002, **13**, 1.
9. X.Y. Xiong, K.C. Tam, L.H. Gan, *J. Controlled Release* 2005, **103**, 73.
10. P. Costa, i in., *Eur. J. Pharm. Sci.* 2001, **13**, 123.
11. K.M. Gallagher, O.I. Corrigan, *J. Controlled Release* 2000, **69**, 261.

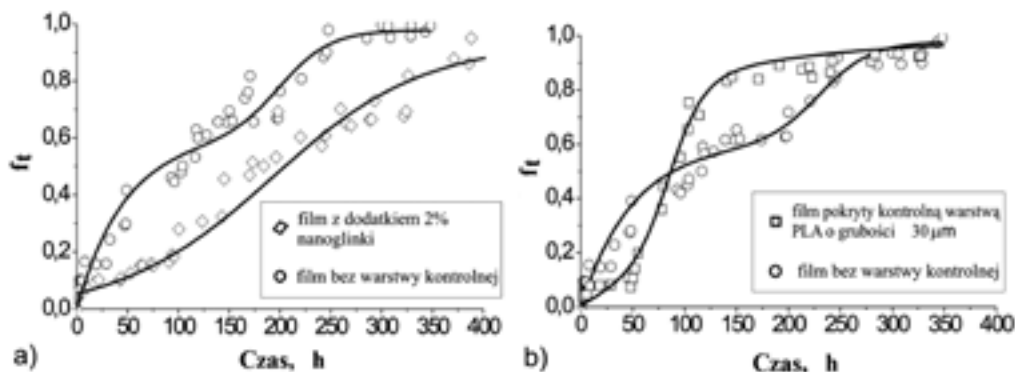


Fig. 5. Kinetic curves of ibuprofen released from films: a) with a control layer, b) with nanoclay

Rys. 5. Krzywe kinetyczne uwalniania ibuprofenu z filmów: a) z warstwą kontrolną, b) z dodatkiem nanoglinki

Table 2. Kinetic parameters of release from modified polylactide films

Tabela 2. Parametry kinetyczne uwalniania ibuprofenu z modyfikowanych filmów PLA

Film PLA	Parametry modelu dwuetapowego				
	f_b	$f_{t\text{maks}}$	k_1 , 1/h	k_2 , 1/h	$t_{2\text{maks}}$, h
Niemodyfikowany	0,60	0,98	0,020	0,040	230
Z dodatkiem 2% Cloisite	0,12	0,98	0,002	0,014	195
Z warstwą 30 μm PLA	0,30	0,99	0,007	0,060	85

dla filmu z warstwą). Obserwowano także wydłużenie czasu, jaki pozostał do maksymalnego uwolnienia leku w drugim etapie procesu dla filmu z warstwą kontrolną ($t_{2\text{maks}} = 315$ h) oraz dla filmu bez warstwy ($t_{2\text{maks}} = 170$ h). Dodatek nanoglinki w ilości 2% także powodował wydłużenie czasu do maksymalnego uwolnienia leku $t_{2\text{maks}} = 205$ h. Dodatek ten znacznie obniżył ilość uwolnionego IBU w pierwszym etapie uwalniania ($f_b = 0,12$ dla filmu z dodatkiem oraz $f_b = 0,60$ dla filmu PLA bez dodatku). Obecność modyfikowanego montmorylonitu wpływała na znaczne obniżenie szybkości uwalniania ibuprofenu w pierwszym etapie procesu, $k_1 = 0,020$ dla filmu bez nanoglinki oraz $k_1 = 0,002$ dla filmu z 2% nanoglinki.

Na rys. 6 przedstawiono mikrofotografię filmu PLA po procesie uwalniania IBU. Przedstawia ona strukturę z licznymi ubytkami mate-

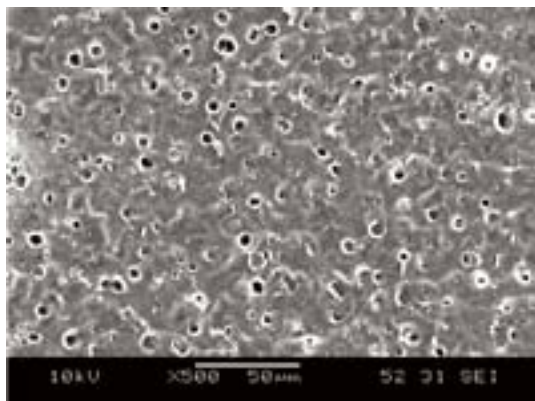


Fig. 6. Microphotogram of polylactide film after release

Rys. 6. Mikrofotografia filmu PLA po procesie uwalniania