

Ewa DŁUSKA, Agnieszka MARKOWSKA-RADOMSKA

e-mail: e.dluska@ichip.pw.edu.pl

Zakład Kinytyki i Termodynamiki Procesowej, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Analiza mechanizmów uwalniania składnika aktywnego z utrwalonych do postaci mikrosfer emulsji wielokrotnych

Wstęp

Mikrosfery składnika aktywnego (leku), będące przedmiotem pracy, stanowią mikrocząstki polimeru (matryca polimerowa) z inkorporowanymi w ich strukturze kroplami składnika aktywnego. Szybkość uwalniania składnika zależy od właściwości fizykochemicznych zarówno składnika aktywnego jak i polimeru, a także od geometrii mikrosfer (roz rozmieszczenie i wielkość kropeł, średnica matrycy i jej budowa: jednolita lub warstwowa). Rodzaj zewnętrznego medium uwalniania, jego pH i temperatura oraz warunki mieszania mają również znaczący wpływ na szybkość procesu uwalniania.

Uwalnianie składnika aktywnego z postaci mikrosfer obejmuje etap transportu składnika wewnątrz cząstki do powierzchni międzyfazowej oraz transport przez powierzchnię i w środowisku uwalniania. Głównymi mechanizmami wpływającymi na szybkość uwalniania są dyfuzja składnika wewnątrz mikrosfer lub erozja/degradacja matrycy polimerowej oraz dyfuzyjno-konwekcyjny transport na zewnątrz cząstki.

Pojęcie erozji polimeru obejmuje zespół oddziaływań otaczającego środowiska prowadzących ogólnie ujmując do zmian właściwości fizykochemicznych polimeru. Erozji często towarzyszy degradacja chemiczna materiału tj. postępujący rozkład makrocząsteczek w wyniku rozrywania odpowiednich wiązań (np. estrowych) co prowadzi do powstawania produktów o mniejszych ciężarach cząsteczkowych.

Erozję (obejmującą proces degradacji) zasadniczo można podzielić na heterogeniczną zwaną też powierzchniową oraz homogeniczną (wglębną) [1]. Erozja/degradacja homogeniczna ma miejsce gdy szybkość transportu medium uwalniania do wnętrza np. mikrosfer przewyższa szybkość zmian chemicznych polimeru matrycy. Cechami charakterystycznymi degradacji homogenicznej jest zmniejszenie ciężarów cząsteczkowych polimeru matrycy (M_w) przy zachowaniu stałości jej wymiarów geometrycznych.

Natomiast w przypadku degradacji heterogenicznej występuje zmiana wymiarów i ubytek masy polimeru przy zachowaniu stałości ciężarów cząsteczkowych M_w . W przypadku erozji/degradacji heterogenicznej szybkość transportu medium zewnętrznego do mikrosfer jest mniejsza od szybkości procesów degradacji polimeru. Gdy w procesie uwalniania występują zmiany morfologiczne bez zmian składu chemicznego, mówimy o erozji fizycznej.

Mechanizmy uwalniania składnika aktywnego z mikrosfer

Mikrosfery otrzymywano w wyniku termicznego utrwalania (utwardzania) emulsji wielokrotnych wytwarzanych metodą jednostopniową w aparacie z przepływem helikoidalnym [2, 3]. Otrzymywane emulsje wielokrotne typu $O_1/W/O_2$ miały skład: krople fazy wewnętrznej O_1 : salol (salicylan fenylu) rozpuszczony w parafinie, faza membranowa W: roztwór wodny żelatyny sieciowanej cukrami prostymi, faza zewnętrzna O_2 : parafina. Mikrosfery otrzymywano w wyniku chłodzenia emulsji wielokrotnych, co prowadziło do utwardzania fazy żelowej stanowiącej krople fazy membranowej, zawierających krople parafiny ze składnikiem aktywnym.

Badania uwalniania salolu z kropeł wewnętrznych mikrosfer prowadzono w standardowym mieszalniku w środowisku uwalniania, którym był etanol, w warunkach mieszania 100–500 obr/min. Badano mikrosfery różniące się zawartością składnika aktywnego i strukturą

wewnętrzną (promieniami kropeł wewnętrznych i mikrosfer oraz wielkością opakowania mikrosfer kroplami wewnętrznymi).

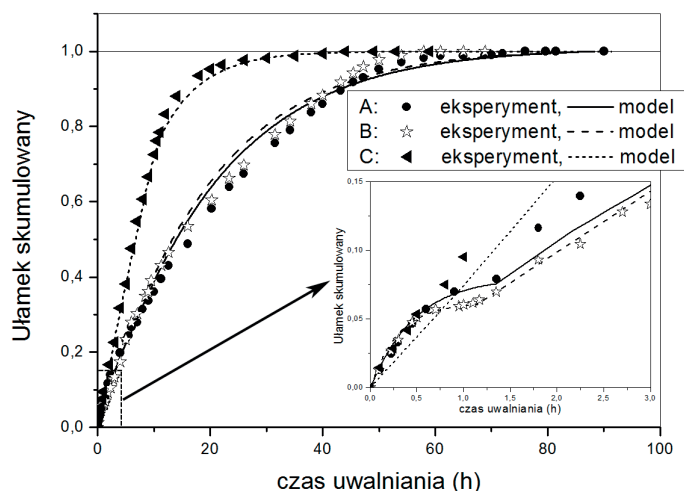
W celu identyfikacji mechanizmów uwalniania badano kinetykę degradacji matrycy sieciowanej żelatyny oraz prowadzono 2D i 3D obserwacje mikroskopowe stanu powierzchni mikrosfer (mikroskop konfokalny laserowy oraz skaningowy mikroskop elektronowy). Mierzono zmiany ciężaru próbek pustych (bez leku) mikrosfer poddawanych działaniu środowiska uwalniania (etanolu) oraz zmiany ciężarów cząsteczkowych żelatyny sieciowanej metodą elektroforezy (elektroforeza protein) oraz chromatografii żelowej.

Badania wykazały zarówno brak zmiany ciężaru mikrosfer jak i ciężarów cząsteczkowych sieciowanej żelatyny. Analiza obrazu mikroskopowego pozwala wnioskować, że występowały efekty fizycznej erozji. Obserwowano zmiany morfologiczne wyrażające się zmianą porowatości mikrosfer poddawanych działaniu etanolu i naprężen związanych z mieszaniem.

Wyniki doświadczalne wykazały istnienie etapu związanego z efektami początkowymi takimi jak pierwotne oraz bardzo powolnego uwalnianie. Pierwszy z efektów związany jest z uwalnianiem w chwili początkowej składnika aktywnego unieruchomionego w procesie wytwarzania blisko powierzchni lub na powierzchni mikrosfer. Gdy składnik aktywny umiejscowiony jest na powierzchni mikrosfer, co zależy od metody wytwarzania, uwalnianie może zachodzić w wyniku efektu nazywanego w literaturze przedmiotu początkowym pękaniem (*initial burst effect*).

W rozpatrywanym przypadku wstępne uwalnianie zachodziło w wyniku dyfuzji składnika w porach umiejscowionych blisko powierzchni mikrosfer, o czym świadczył stopniowy wzrost ułamka uwalnianej substancji na początku uwalniania (Rys. 1). W przypadku pierwotnego uwalniania w następstwie pękania, obserwuje się skok stężenia uwalnianej substancji w krótkim czasie penetracji rozpuszczalnika do mikrosfer lub niekiedy nawet w chwili początkowej cząstek z rozpuszczalnikiem.

Faza opóźnionego uwalniania tzw. *lag chase*, wynika z przygotowania wewnętrznej struktury materiału do postaci umożliwiającej ciągle uwalnianie składnika na zewnątrz w danych warunkach (mieszanie, temperatura, pH, itp.) i charakteryzowana jest przez tzw. *lag time*.



Rys. 1. Profile uwalniania składnika aktywnego (salolu) z mikrosfer otrzymanych z emulsji wielokrotnych wytwarzanych w kontaktorze helikoidalnym w warunkach mieszania zewnętrznego: A = 100 obr/min, B = 250 obr/min, C = 500 obr/min.

W tej fazie następują zmiany struktury matrycy polimerowej poddawanej ekspozycji środowiska zewnętrznego (rozpuszczalnika leku i ew. składników matrycy polimeru). Na ogół w tym okresie zwiększa się porowatość materiału do wartości wymaganej do uzyskania takich warunków transportu wewnętrznego, że składnik może być uwalniany na zewnątrz. Minimalna porowatość umożliwiająca uwalnianie składnika tzw. wartość progowa, określana jest w zależności od geometrii układu uwzględniającej wewnętrzną strukturę. Zwykle matrycę polimerową ze składnikiem aktywnym rozpatruje się jako sieć złożoną z odpowiedniej liczby węzłów i wiązań wykorzystując podstawy teorii perkolacji.

Badania wykazały istotny wpływ struktury wewnętrznej mikrosfer i związanej z tym zawartości składnika aktywnego oraz intensywności mieszania środowiska uwalniania na szybkość uwalniania składnika. Struktury o największym upakowaniu i o dużej zawartości składnika aktywnego charakteryzowały się, zgodnie z oczekiwaniami, najmniejszymi szybkościami uwalniania. Dla mikrosfer o największym upakowaniu kroplami składnika aktywnego nie obserwowano znaczącego wpływu intensywności mieszania środowiska zewnętrznego uwalniania, co wynika z dużego oporu wewnętrznego dla transportu masy.

Występowanie etapu początkowego obejmującego wstępne i opóźnione uwalnianie dla określonej struktury mikrosfer zależało w badanym układzie o określonym składzie od intensywności mieszania zewnętrznego. Ze wzrostem intensywności mieszania obserwowano zanik etapu wstępnego.

Szybkość uwalniania składnika aktywnego z utrwalonych do postaci mikrosfer emulsji wielokrotnych

Do opisu szybkości uwalniania składnika z nie degradujących mikrosfer wykorzystano 5-parametrowy model teoretyczny transportu masy w procesie uwalniania składnika ze struktur hierarchicznych (emulsji wielokrotnych, mikrosfer). Parametry modelu opisują strukturę wewnętrzną mikrosfer oraz wpływ warunków uwalniania w zewnętrznym medium. Parametrami są: R – promień mikrosfer, r_1 – promień kropelek wewnętrznych w mikrosferze, ϕ – ułamek zawartości kropelek wewnętrznych w mikrosferach, D – współczynnik dyfuzji składnika aktywnego w mikrosferach oraz h – współczynnik wnikania masy na zewnątrz mikrosfer.

Przykładowe porównanie profili uwalniania salolu, uzyskanych na podstawie proponowanego modelu z danymi doświadczalnymi przedstawiono dla mikrosfer o określonej na rys. 1.

Prezentowany przykład uwalniania składnika z mikrosfer ilustracje fazę początkowego i opóźnionego uwalniania. Dane doświadczalne i modelowe uwalniania dotyczą mikrosfer o charakterystyce podanej w tab. 1.

Model uwzględnia istnienie okresu początkowego (etap I) obejmującego pierwotne i opóźnione uwalnianie przez wprowadzenie odpowiednich warunków początkowych i brzegowych oraz uwzględnia zmiany parametrów transportowych (zmiana współczynnika dyfuzji), związanych ze zmianą struktury mikrosfer w wyniku postępującej erozji fizycznej.

Czas etapu I w warunkach badań wynosił od pół godziny do dwóch godzin. W zależności od składu matrycy polimerowej, etap ten może wynosić od kilkudziesięciu minut do kilku dni [4]. Znajomość tego etapu jest bardzo ważna dla poprawnego zaprojektowania właściwego produktu końcowego tj. produktu który ma uwolnić określoną dawkę w określonym czasie.

Proponowany model poprawnie przewiduje szybkość uwalniania składnika. Przedstawiony przykład pozwala wnioskować o istocie wpływu wnikania na zewnątrz na szybkość uwalniania składnika. Gdy współczynniki wnikania h są tego samego rzędu, jak te odpowiadające warunkom intensywności mieszania określonej obrotami 100 i 250 obr/min, nie ma różnic w szybkości uwalniania. Wzrost szybkości uwalniania można uzyskać, dla rozpatrywanej struktury mikrosfer, przez

Tab. 1. Przykładowa charakterystyka mikrosfer i parametrów uwalniania uwzględnionych w modelowaniu procesu

Warunki wytwarzania	$N = 1830$ obr/min $c_{in} = 20\%$		
Struktura mikrosfer	$D_{32} = 42,4 \mu\text{m}$, $d_{32} = 22,9 \mu\text{m}$, $\phi = 0,74$, $EE = 0,16$ mg salolu w 1 mg kapsulek		
n (obr/min)	100	250	500
h (m/s)	$6,97 \cdot 10^{-5}$	$8,96 \cdot 10^{-5}$	$1,08 \cdot 10^{-4}$
t_L (h)	1,38	1,15	–
D (m ² /s)	Etap I $1,5 \cdot 10^{-14}$	Etap I $1,8 \cdot 10^{-14}$	$2,8 \cdot 10^{-12}$
	Etap II $1,4 \cdot 10^{-11}$	Etap II $1,7 \cdot 10^{-11}$	

gdzie:

N – częstość obrotów wewnętrznego cylindra w kontaktorze helikoidalnym

c_{in} – stężenie salolu w strumieniu parafiny wprowadzanym do kontaktora

D_{32} – średnica Sautera mikrosfer

d_{32} – średnica Sautera kropelek wewnętrznych

ϕ – upakowanie kropelek wewnętrznych

EE – sprawność enkapsulacji składnika aktywnego

n – częstość obrotów mieszadła w standardowym mieszalniku

t_L – czas trwania fazy opóźnionego uwalniania

h – współczynnik wnikania w środowisko uwalniania (etanol)

Etap I – etap opóźnionego uwalniania

Etap II – etap właściwego uwalniania

wzrost wartości h . Rozszerzając dyskusję na mikrosfery o innej charakterystyce wzrost szybkości uwalniania można uzyskać albo przez zmianę struktury mikrosfer albo przez zmianę warunków odbioru składnika aktywnego z ich powierzchni.

Wnioski

Badania doświadczalne uwalniania składnika aktywnego z mikrosfer otrzymywanych z emulsji wielokrotnych potwierdziły istotę wewnętrznej struktury mikrosfer i warunków zewnętrznego uwalniania w modelowaniu kinetyki procesu.

Przedstawiony model pozwala na przewidywanie profili uwalniania składnika z mikrosfer dla przypadku niedegradowalnej matrycy polimerowej, gdzie szybkość uwalniania związana jest z szybkością złożonego procesu erozji matrycy polimerowej i dyfuzji składnika przez porowatą matrycę oraz z szybkością transportu na zewnątrz mikrosfer.

Model ze względu na swoje parametry charakterystyczne pozwala na dyskusję wpływu struktury mikrosfer i warunków uwalniania zewnętrznego na szybkość uwalniania.

Fakt możliwości uwzględnienia etapowości przebiegu procesu uwalniania w proponowanym modelu jest jego niewątpliwą zaletą zwłaszcza, że wiele przypadków uwalniania z mikro/nanocząstek przebiega dwu lub kilkietapowo. Dla zapewnienia właściwego efektu (np. terapeutycznego) często planowane jest kilkietapowe wydzielanie tzw. *pulsatile release*. W takiej sytuacji model może być również przydatny do projektowania procesu uwalniania z mikro/nanocząstek.

LITERATURA

- [1] A. Göpferich: *Biomaterials* **17**, 103 (1996).
- [2] E. Dluska, A. Markowska: *Chem. Eng. Process.* **48**, 438 (2009).
- [3] E. Dluska, A. Markowska-Radomska: *Chem. Eng. Technol.* **33**, 113 (2010).
- [4] H-H. Chia, Yi-Yan Yang, T-S Chung, S.Ng, J.Heller: *J. Controlled Release* **75**, 11, (2001).

Praca finansowana jest w ramach projektu badawczego MNiSW NN209145836 (2009–2012).