

Piotr Kulinowski

Badania struktury uwadnianych hydrofilowych matryc polimerowych z substancjami o różnej rozpuszczalności na przykładzie hydroxypropylmetylocelulozy

Wstęp

Matryce hydrofilowe z inkorporowanymi substancjami leczniczymi używane są powszechnie jako główny składnik postaci leku o przedłużonym/kontrolowanym uwalnianiu. Badania struktury i ewolucji matryc hydrofilowych w trakcie uwadniania rozwinęły się w ciągu ostatnich kilkunastu lat ze względu na dostępność różnych metod obrazowania, pozwalających na nieinwazyjne obrazowanie układu *in situ*.

Hydroxypropylmetyloceluloza (HPMC) to polimer używany powszechnie zarówno w przemyśle spożywczym, jak i farmaceutycznym. Jest dostępny w wersjach o różnej lepkości (badanej w roztworze 20%), różnej zawartości podstawników, co daje szeroką gamę właściwości polimeru. Dodatkowo, istotną zaletą HPMC jest stosunkowo duża ilość opublikowanych prac badawczych dotyczących tego polimeru.

Wspólną cechą badań, które zostaną omówione, jest to, że dostarczają informacji przestrzennych o strukturze uwadnianej matrycy oraz o zmianach tej struktury w czasie. Informacja ta może być przedstawiona za pomocą obrazów (często obrazów parametrycznych dających informacje o właściwościach fizycznych układu lub koncentracji) wykonanych w różnym czasie po umieszczeniu matrycy w roztworze. Jednak najczęściej z obrazów wyodrębnia się warstwy/regiony o podobnych właściwościach lub fronty, czyli miejsca w uwadnianej matrycy, gdzie mamy do czynienia ze stosunkowo dużą zmianą wartości obserwowanych parametrów. W części omawianych prac matryca poddawana była przepływowi lub mieszaniu roztworu – celem było zapewnienie podobnych warunków erozji układu, jakim poddawane są postaci leku w przewodzie pokarmowym.

Metody optyczne

Chronologicznie najwcześniejszymi metodami użytymi do obrazowania uwadnianych matryc polimerowych były metody optyczne. Metody optyczne w zakresie światła widzialnego stosowano na dwa sposoby. Pierwszym sposobem jest umieszczenie próbki między płytkami wykonanymi z przezroczystego materiału i obserwowanie optycznych zmian na powierzchni próbki przylegającej do płytki.

Używa się do tego celu także środków barwiących – podejście takie nazywa się kolorymetrią.

Klasyczna praca Colombo et al. z 1999 roku [1] opisuje badania matryc HPMC z 10, 20, 30, 40, 60 oraz 80% udziału wagowego BPP, gdzie BPP (bufloxedil pyridoxal phosphate) jest substancją dobrze rozpuszczalną w wodzie. Zaobserwowano fronty, które zostały zidentyfikowane jako front pęcznienia, dyfuzji (wg autorów związany z lekiem) oraz erozji. Podobna technika była stosowana wielokrotnie przez różnych autorów, np. Ferrero et al. [2], m.in. dla porównania zachowania matryc HPMC o różnych lepkościach z niewielkim dodatkiem dobrze rozpuszczalnej w wodzie substancji czynnej (salicylan sodu). W tym przypadku autorzy także obserwowali trzy fronty. Zostały one nazwane frontami penetracji, pęcznienia oraz erozji. Wynika z tego, że front wyróżniony przez Colombo nie był związany tylko i wyłącznie z występowaniem w matrycy substancji czynnej.

Wadą tego typu badań jest ograniczenie ewolucji matrycy do kierunku radialnego. Gao i Meury [3] zastosowali bardziej złożoną metodę optyczną, pozwalającą na obserwowanie uwodnionej matrycy, w czasie gdy próbka umieszczona jest w dużej objętości roztworu, a roztwór jest poddawany mieszaniu. Autorzy jako jedyni wyróżniają istnienie frontu związanego z przejściem fazowym ze stanu szklistego do elastycznego. Podjęto próbę kalibracji koncentracji polimeru, używając do tego specjalnie przygotowanych próbek o różnej koncentracji wody i polimeru. Ustalono, że czułość metody kończy się na koncentracji polimeru 42%. Dlatego nazwano ten front frontem pozornym (apparent gel front). Z tego też powodu, mimo założenia istnienia frontu przejścia fazowego, autorom nie udało się zaobserwować żadnego „prawdziwego” frontu wewnątrz matrycy, w szczególności dotyczy to frontu przejścia fazowego.

Obrazowanie spektroskopowe w podczerwieni

FTIR-ATR (Fourier Transform Infra Red – Attenuated Total Reflectance), czyli obrazowanie w podczerwieni metodą osłabionego odbicia całkowitego, pozwala na jednoczesny pomiar rozkładu przestrzennego różnych składników matrycy (substancji czynnej, polimeru, wody) w czasie. Praca Kazarian et al. [4] podobnie jak praca Colombo [1] dotyczyła matrycy HPMC z dodatkiem BPP (60%). Do obrazowania spektroskopowego w podczerwieni dodano makrofotografię w świetle widzialnym. Pozwoliło to na rejestrację frontów optycznych przy równoczesnym pomiarze koncentracji składników matrycy. Wyróżniono front penetracji rozpuszczalnika (true water penetration), front powstania stabilnej warstwy żelu (total gellification) oraz front erozji (erosion front). Autorzy postulują, że drugi front jest związany z przejściem fazowym ze stanu szklistego do elastycznego. Front ten pojawia się przy koncentracji wody między 0,3 a 0,7 udziału wagowego w danym miejscu matrycy, podczas gdy z innych źródeł wiadomo, że przejście fazowe w temperaturze pokojowej zachodzi przy koncentracji wody w próbce ok. 20% [5]. Autorzy postulują także, że przeprowadzona przez nich identyfikacja frontów jest zgodna z proponowaną wcześniej przez Gao et al. [3].

Wadą obrazowania w podczerwieni jest bardzo mały rozmiar próbki – stosowano próbki $\phi 3$ mm. Tak jak w pierwszej pracy autorów [6] tylko część matrycy

mogła być obrazowana. Pole widzenia wynosiło $820 \times 1140 \mu\text{m}$, przy rozdzielczości przestrzennej około $20 \mu\text{m}$ i czasowej 2 min.

Rentgenowska mikrotomografia komputerowa

μCT , czyli rentgenowska mikrotomografia komputerowa, została użyta do celów omawianych w artykule po raz pierwszy w 2010 roku przez Laity et al. [7]. Uzyskano rozdzielczość przestrzenną $18,3 \mu\text{m}$ i czasową 10 min. Kolejna praca została wykonana przy wykorzystaniu promieniowania synchrotronowego z rozdzielczością $30,6 \mu\text{m}$ i czasową 2.36 min [8]. Pomiary zostały wykonane w warunkach statycznych, tzn. bez przepływu lub mieszania roztworu. Prace te miały głównie na celu obserwacje przemieszczeń struktury w ramach nisko uwodnionego obszaru matrycy – obserwowano przemieszczenia szklanych kulek o średnicy $180\text{--}212 \mu\text{m}$ dodanych do matrycy. Istotną rzeczą z punktu widzenia obrazowania struktury było zaobserwowanie w matrycy obszaru o niskiej absorbancji. Został on zidentyfikowany w odniesieniu do pracy Melia et al. [9] jako formowanie się banieczek powietrza (bubble formation) w pęczniejącej warstwie żelowej tworzącej się dookoła matrycy. Praca Melia et al. została wykonana za pomocą kriogenicznego elektronowego mikroskopu skaningowego (cryogenic-SEM) [9]. Jest to badanie niszczące, wymagające zamrożenia próbki, a lokalizacja obszaru jest trudna do ustalenia (zależna od uzyskania dobrej jakości przełomu). Mimo to autorzy pokazali, że w pewnym obszarze, na styku obszarów suchej matrycy oraz żelu/pseudożelu pojawiają się przestrzenie wypełnione powietrzem (air voids).

Obrazowanie magnetyczno-rezonansowe

Podstawy obrazowania MR oraz systemy obrazowania MR sprzężone z komorami przepływowymi zostały omówione wcześniej w pracy Kulinowski et al. [10].

W części prac można spotkać się z obrazowaniem parametrycznym, które polega na uzyskaniu rozkładów przestrzennych fizykochemicznych parametrów próbki. Metodami obrazowania MR można w ten sposób uzyskać rozkłady czasów relaksacji T_2 oraz związanych z nimi gęstości protonowych, czasów relaksacji T_1 lub współczynników samodyfuzji. Znaczenie fizyczne wymienionych parametrów można znaleźć na przykład w książce Hennela [11] lub Haussera i Kalbitzera [12].

Wśród prac dotyczących matryc polimerowych HPMC na uwagę zasługuje praca Tajarobi et al. (pole widzenia $2,5 \times 2,5 \text{ cm}$, rozdzielczość przestrzenna $0,2 \text{ mm}$ i czasowa 21 min.) [13]. Oprócz parametrycznego obrazowania MR (T_2) prowadzonego w komorze przepływowej przeprowadzono także badanie uwalniania substancji czynnej (rozpuszczalnej, jak i praktycznie nierozpuszczalnej) oraz samego polimeru. Standardem jest oznaczanie uwalniania w przypadku substancji rozpuszczalnej, natomiast uwalnianie substancji nierozpuszczalnej w wodzie oraz samego polimeru zostało przeprowadzone po raz pierwszy równocześnie z obrazowaniem MR. W przypadku wszystkich trzech układów autorzy mówią o warstwie uwodnionej jako o warstwie żelowej, mimo że należałoby się spodziewać różnic we właściwościach fizykochemicznych uwodnionego obszaru. Z matrycy polimerowej zawierającej nierozpuszczalną substancję uwalnianie tej substancji odbywało się w takim samym tempie jak dla polimeru, natomiast w przypadku substancji rozpuszczalnej

uwalnianie substancji wyprzedzało uwalnianie polimeru. W tym drugim przypadku oprócz erozji mechanizm dyfuzji odpowiedzialny jest za uwalnianie substancji czynnej. W sposób pośredni świadczy to o różnicach między właściwościami fizykochemicznymi uwodnionej matrycy.

Podobne uproszczenie pojawia się w pracy Kowalczuk et al. [14], gdzie badano układ matrycowy z tetracykliną. Określano zmiany grubości warstwy żelowej, jak i głębokość penetracji roztworu w czasie. W obu przypadkach zakres warstwy żelowej wyznaczany był na radialnych profilach (przestrzennych rozkładach) czasów relaksacji T_2 – wewnętrzną granicę warstwy żelowej ustalano według najmniejszego sygnału podlegającego detekcji. Przy czasach echa używanych w opisywanych pracach (10–20 ms) niemożliwa była rejestracja sygnału z całości uwodnionego obszaru matrycy.

Jeżeli przyjrzeć się omówionym pracom wykonanym za pomocą metod MR, większość z nich przedstawia strukturę matrycy jako złożoną z dwu regionów. W tym przypadku są to: obszar suchej matrycy oraz obszar żelu. Często na etapie analizy obrazu wręcz zakłada się istnienie tylko dwu możliwych regionów w matrycy [15]. Niektóre prace wyodrębniają trzy regiony, gdzie dodatkowo wyróżnia się obszar interfejsu pomiędzy suchą matrycą a żelem [16, 17].

Obrazowanie MR zostało także użyte do prób wyznaczenia przestrzennego rozkładu koncentracji polimeru. Do celów kalibracji wykorzystano próbki sezonowane, np. cienkie warstwy polimeru uwadniane w eksykatorze albo próbki objętościowe przygotowywane poprzez mechaniczne mieszanie. Prace takie wykonane zostały przez Baugartner et al. oraz Laity et al. [18, 8]. Wydaje się jednak, że tego typu próby nie są do końca uzasadnione – przesłanką może być tutaj istnienie obszaru o mniejszej gęstości obserwowanego za pomocą obrazowania μ CT. Próbki sezonowane nie odpowiadają temu, co dzieje się wewnątrz rzeczywistej matrycy, gdzie poza oczywistymi czynnikami wpływającymi na własności fizykochemiczne matrycy, takimi jak stężenie rozpuszczalnika oraz temperatura, wymienia się czas potrzebny do uzyskania przez układ danego stanu. Na czynnik czasu zwracają szczególnie uwagę Kazarian et al. [4].

Konkluzje

Przegląd prac wykonanych różnymi technikami nieinwazyjnego obrazowania wnętrza próbki wykazuje niejednoznaczności w detekcji oraz interpretacji struktury uwadnianych matryc HPMC – tak czystych, jak i z dodatkiem substancji czynnych o różnej rozpuszczalności.

Omówione badania mają wymiar praktyczny, ponieważ tworzenie się obszarów/warstw w uwadnianej matrycy (lub brak niektórych) oraz ewolucja tych obszarów w czasie ma wpływ na uwalnianie się substancji czynnej z matrycy. Znajomość struktury oraz jej ewolucji może pozwolić na wnioskowanie o sposobie uwalniania się substancji czynnej z matrycy oraz na praktyczną ocenę formulacji pod kątem uzyskania konkretnego przebiegu uwalniania substancji czynnej w czasie.

Zasadne wydają się zatem dalsze próby określania struktury uwadnianych matryc polimerowych oraz jej ewolucji metodami obrazowania magnetyczno-rezonansowego, szczególnie przy użyciu metod parametrycznych (np. relaksometrii) dających przestrzenne rozkłady parametrów. Obrazowanie MR pozwala bowiem

na nieinwazyjne badanie matryc praktycznie dowolnych wielkości i kształtów, nie ograniczając jednocześnie pęcznienia matrycy tak jak to jest w przypadku metod optycznych lub obrazowania FTIR.

Literatura

- [1] Colombo P., Bettini R., Peppas N.A., *Observation of swelling process and diffusion front position during swelling in hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) matrices containing a soluble drug*, J Control Release, 1999, 61(1–2): 83–91.
- [2] Ferrero C., Massuelle D., Doelker E., *Towards elucidation of the drug release mechanism from compressed hydrophilic matrices made of cellulose ethers. II. Evaluation of a possible swelling-controlled drug release mechanism using dimensionless analysis*, J Control Release, 2010, 141(2): 223–33.
- [3] Gao P., Meury R.H., *Swelling of hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets. 1. Characterization of swelling using a novel optical imaging method*, J Pharm Sci, 1996, 85(7): 725–31.
- [4] Kazarian S.G., van der Weerd J., *Simultaneous FTIR spectroscopic imaging and visible photography to monitor tablet dissolution and drug release*, Pharm Res, 2008 Apr, 25(4): 853–860.
- [5] Hancock B.C., Zografi G., *The relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids*, Pharm Res, 1994, 11(4): 471–7.
- [6] Weerd J. van der, Kazarian S.G., *Combined approach of FTIR imaging and conventional dissolution tests applied to drug release*, J Control Release, 2004 Aug 11, 98(2): 295–305.
- [7] Laity P.R., Mantle M.D., Gladden L.F., Cameron R.E., *Magnetic resonance imaging and X-ray microtomography studies of a gel-forming tablet formulation*, Eur J Pharm Biopharm, 2010, 74(1): 109–19.
- [8] Laity P.R., Cameron R.E., *Synchrotron X-ray microtomographic study of tablet swelling*, Eur J Pharm Biopharm, 2010, 5(2): 263–76.
- [9] Melia C.D., Rajabisiahboomi A., Hodsdon A.C., Adler J., Mitchell J.R., *Structure and behaviour of hydrophilic matrix sustained release dosage forms: 1. The origin and mechanism of formation of gas bubbles in the hydrated surface layer*, International Journal of Pharmaceutics, 1993, 100(1–3): 263–269.
- [10] Kulinowski P., Dorożyński P., *Możliwości różnicowania in vitro układów złożonych z matrycy polimerowej i substancji czynnej metodą Magnetycznego Rezonansu Jądrowego w kontekście układów farmaceutycznych o kontrolowanym uwalnianiu*, Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis, Studia Technica IV, 2011, s. 64–71.
- [11] Hennel J.W., *Wstęp do teorii magnetycznego rezonansu jądrowego*, wyd. II, Wydawnictwo Instytutu Fizyki Jądrowej w Krakowie, Kraków 1997.
- [12] Hausser K.H., Kalbitzer H.R., *NMR w biologii i medycynie: badania strukturalne, tomografia, spektroskopia in vivo*, Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza, Poznań 1993.
- [13] Tajarobi F., Abrahmsén-Alami S., Carlsson A.S., Larsson A., *Simultaneous probing of swelling, erosion and dissolution by NMR-microimaging-effect of solubility of additives on HPMC matrix tablets*, Eur J Pharm Sci. 2009, 37(2): 89–97.

- [14] Kowalczyk J., Tritt-Goc J., Piślewski N., *The swelling properties of hydroxypropyl methyl cellulose loaded with tetracycline hydrochloride: magnetic resonance imaging study*, Solid State Nucl Magn Reson, 2004, 25(1–3): 35–41.
- [15] Nott K.P., *Magnetic resonance imaging of tablet dissolution*, Eur J Pharm Biopharm, 2010, 74(1): 78–83.
- [16] Kojima M., Ando S., Kataoka K., Hirota T., Aoyagi K., Nakagami H., *Magnetic resonance imaging (MRI) study of swelling and water mobility in micronized low-substituted hydroxypropylcellulose matrix tablets*, Chem Pharm Bull, 1998, 46: 324–328.
- [17] Kulinowski P., Dorożyński P., Młynarczyk A., Węglarz W.P., *Magnetic resonance imaging and image analysis for assessment of HPMC matrix tablets structural evolution in USP Apparatus 4*, Pharm Res, 2011, 28(5): 1065–73.
- [18] Baumgartner S., Lahajnar G., Sepe A., Kristl J., *Quantitative evaluation of polymer concentration profile during swelling of hydrophilic matrix tablets using ¹H NMR and MRI methods*, Eur J Pharm Biopharm, 2005 Feb, 59(2): 299–306.

Structure of hydrating hydrophilic polymer (hydroxypropylmetylocelulose) matrices loaded with drug substances of different water solubility – a critical review of research studies

Abstract

The paper describes research studies on structure of hydrating polymeric matrices loaded with active (drug) substances of different water solubility as well as their temporal evolution. Reviewed studies were performed mainly using noninvasive imaging techniques: optical methods, „chemical” infrared spectroscopy imaging, magnetic resonance imaging and x-ray micro-computed tomography.

Key words: hydroxypropylmethylcellulose, FTIR, μ CT, MRI

Piotr Kulinowski
UP – Kraków
Instytut Techniki