

Ocena właściwości żeli otrzymywanych na bazie Pluronicu F-127 jako nośników dla prolaktyny podawanej w postaci iniekcji

BOŻENA KAROLEWICZ,
ANNA PAWLIK-GAŁCZYŃSKA,
JANUSZ PLUTA, FLORIAN RYSZKA

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku
Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Celem badań było otrzymanie termowrażliwej formulacji, ulegającej przemianie fazowej żol-żel w temperaturze zbliżonej do temperatury ciała ludzkiego, stanowiącej nośnik dla białka – prolaktyny, podawanego bezpośrednio do łitego guza nowotworowego. Prolaktyna (PRL) jest hormonem, który w badaniach *in vivo* i *in vitro* wykazuje właściwości antyangiogenne. Podanie tego białka w proponowanych formulacjach może być szczególnie korzystne, ze względu na jego stosunkowo niską trwałość i ograniczoną zdolność przenikania transbłonowego.

W pracy sporządzono termowrażliwe nośniki na bazie niejonowego polimeru Pluronicu F-127, z dodatkiem wybranych substancji pomocniczych, tj. dekstran 7000, PEG 400, Tween 20 i Tween 80. Badano temperaturę przejścia fazowego żol-żel opracowanych formulacji i oceniano ich właściwości fizykochemiczne, tj. pH, gęstość i ciśnienie osmotyczne.

W dalszej części pracy prowadzono testy uwalniania prolaktyny z proponowanych nośników. Uzyskane rezultaty wskazują, iż istotny wpływ na parametry reologiczne otrzymanych nośników i dostępność farma-

ceutyczną prolaktyny miał skład opracowanych formulacji.

Słowa kluczowe: termowrażliwe nośniki leku, prolaktyna, działanie antyangiogenne, temperatura przejścia fazowego żol-żel, wstrzyknięcie do guza

In vitro evaluation of the gels properties prepared on Pluronic F-127 as vehicles for administration prolactin by injection

Summary

The aim of this study was to prepare a thermoresponsive formulations, which are a carrier for proteins – prolactin administered directly into solid tumor and which obtain sol-gel transitions at physiological ranges of temperature. Prolactin (PRL) is a hormone that *in vivo* and *in vitro* exhibits antiangiogenic properties. Application of this protein in the proposed formulations can be particularly advantageous because of its relatively low stability and limited ability to transmembrane penetration.

The paper prepared thermoresponsive carriers, based on nonionic polymer Pluronic F-127 with selected excipients such as dextran 7000, PEG 400, Tween 20 and Tween 80. The sol-gel transition temperature of the formulations was investigated and their physicochemical properties such as pH, density, osmotic pressure were studied.

In the remainder of the work carried out tests of prolactin release from the proposed media. The results obtained indicate that a significant influence on the rheological parameters obtained carriers and the availability of pharmaceutical composition of prolactin was developed formulation.

Key words: thermosensitive drug carriers, prolactin, antiangiogenic activity, sol-gel transition temperature, intratumoral injection

WPROWADZENIE

Wdrożenie do praktyki klinicznej leków peptydowych, niesie za sobą konieczność pokonania wielu problemów związanych z ich stosunkowo niską trwałością, krótkim okresem biologicznego półtrwania oraz stwarza potrzebę opracowania dogodnego sposobu ich podawania, eliminującego możliwość pojawienia się interakcji pomiędzy cząsteczkami peptydów, a środowiskiem wewnątrzustrojowym organizmu człowieka [1–3]. Prolaktyna jest białkiem o udowodnionym działaniu antyangiogennym *in vitro* i *in vivo*. Jej N-terminalny fragment o ciężarze cząsteczkowym 16 kDa cechuje wysokie powinowactwo do komórek endotelium, na których powierzchni występują receptory wiążące hormon (PRL-R, *prolactin receptors*).

Poprzez inhibicję proliferacji komórek endotelialnych i indukcję ich apoptozy na drodze aktywacji kaspazy 3, wymieniony fragment prolaktyny powoduje zahamowanie tworzenia naczyń krwionośnych w obrębie nowotworu, supresję śródbłonkowego czynnika wzrostu VEGF oraz stymuluje ekspresję inhibitora plazminogenu [4–6]. Poza wymienionymi mechanizmami, regulacja procesu angiogenezy pod wpływem prolaktyny jest możliwa również dzięki jej hamującemu wpływowi na aktywność syntaz tworzących tlenek azotu, będący czynnikiem niezbędnym do utrzymania homeostazy naczyń krwionośnych [7–9].

Podanie prolaktyny w proponowanych formuacjach termowrażliwych może być szczególnie korzystne ze względu na jej stosunkowo niską trwałość, ograniczoną zdolność przenikania przez błonowy oraz łatwą skłonność do agregacji, zmniejszającej jej rozpuszczalność. W przypadku zastosowania Pluronicu F-127 jako nośnika dla związków o budowie peptydowej, jest możliwe nawet przy wysokich stężeniach polimeru, otrzymanie na jego bazie jednorodnych zawiesin białek, przy jednoczesnym zachowaniu ich struktury drugorzędowej [10–13]. Pluronic F-127 cechuje również niewielka zdolność do łączenia się z białkami wewnątrz organizmu, np. z immunoglobulinami, co zapobiega adhezji fagocytów do cząsteczek podawanego leku peptydowego

i tym samym umożliwia uzyskanie ich przedłużonego działania.

W piśmiennictwie są liczne doniesienia, iż projektowanie nośników leku uzyskiwanych na bazie Pluronicu F-127 jest korzystne w leczeniu nowotworowych guzów opornych na terapię wielolekową, tzw. *multidrug-resistant cancer* (MDR). Poprzez oddziaływanie tego blokowego polimeru z komórkami nowotworowymi, zwiększa się ich wrażliwość na stosowane chemioterapeutyki [12–14].

Dobór pozostałych, użytych do sporządzenia formuacji substancji pomocniczych, podyktowany był zamiarem uzyskania nośników, w których prolaktyna ulegałaby łatwo rozpuszczeniu. Do uzyskania formuacji wykorzystano polisorbaty (Tween 20 i Tween 80), ze względu na ich właściwości solubilizujące i zapobiegające agregacji białek oraz polioksyetylenoglikol 400 (PEG 400), będący rozpuszczalnikiem dla substancji ulegających hydrolizie [12]. Przesłanką skłaniającą do użycia dekstranu jako składowej formuacji, jest jego zdolność do zwiększania lepkości i w efekcie możliwość uzyskania efektu przedłużonego uwalniania substancji z nośników otrzymanych z jego wykorzystaniem.

MATERIAŁ

Odczynniki

Pluronic F-127 (Sigma-Aldrich, Niemcy);
Dekstran 7000 (Applichem, Polgen S. C.);
Tween 20 (Schuchardt, Niemcy);
Tween 80 (Laboratorium Raegenzien, Niemcy);
Polioksyetylenoglikol 400 (Loba Feinchemie, Niemcy); (Sigma-Aldrich, Niemcy);
Prolaktyna (FZNP, Biochefa); Chlorek sodu (Fluka, Szwajcaria);
Dwuwodorofosforan potasu (POCh, Gliwice);
Dwuwodorofosforan sodu (POCh, Gliwice);
Roztwory kalibracyjne do osmometru o ciśnieniu osmotycznym 0 i 400 mOsm/kg (TridentMed, Polska);

Błona dializacyjna o wielkości porów 50 000 Da (Spectrum Laboratories Inc., Biotech).

W badaniach korzystano z wody podwójnie destylowanej, spełniającej wymogi FP VIII. Bufor fosforanowy o pH 7,4 wykonano wg przepisu zamieszczonego w FP VIII [15].

Aparatura

Waga analityczna Sartorius (Sartorius AG, Goettingen);

Waga laboratoryjna techniczna (Radwag, Polska);

Łoża z nawiewem laminarnym Lamil (Karstulan Metalli OY, Finlandia);

Wielofunkcyjny przyrząd komputerowy Elmetron CX-743 do pomiaru pH z elektrodą zespoloną typu ES AgP-301 (EuroSensor, Gliwice);

Osmometr Marcel OS 3000 (Marcel, Warszawa);

Spektrofotometr UV-VIS V-650 (Jasco, USA);

Komory dyfuzyjne typu Franz'a do badania uwalniania substancji leczniczych o objętości 7 ml z mieszadłem „Helix” (Hanson Research Corporation, Chatsworth, USA);

Sześciopozycyjne mieszadło magnetyczne z grzaniem (G. Kisker GbR, Niemcy);

Piknometr wg Gay-Lussaca z termometrem o objętości rzeczywistej 10 ml;

Reometr cyfrowy Brookfield DV-III typu stożek – płytką wraz z programem komputerowym „Rheocalc for Windows” (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, USA); Stożek CP-51, o zakresie lepkości 20,48–512000 mPa*s (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, USA);

Ultratermostat Brookfield TC-101P (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, USA).

METODY

Technologia przyrządzania podłoży

Sporządzono dziesięć rodzajów podłoży różniących się składem jakościowym i ilościowym. Każda z formulacji została przygotowana w warunkach aseptycznych, w łożu z nawiewem laminarnym, gdzie na wadze odważano odpowiednio – w zależności od składu – dekstran i polioksyetylenoglikol 400 (PEG 400) i rozpuszczano w przygotowanym buforze fosforanowym o pH 7,4. Po rozpuszczeniu wymienionych substancji pomocniczych dodawano do roztworu odważony Pluronic F-127. Tak przygotowane formulacje wyjaławiano w autoklawie w temp. $120 \pm 2^\circ\text{C}$ przez 20 minut.

Następnie również w warunkach aseptycznych dodawano w zależności od składu roztwory pomocnicze związków powierzchniowo czynnych – Tweenu 20 lub Tweenu 80. Wymienione polisorbaty nie mogą być wyjaławiane termicznie, gdyż w wysokiej temperaturze tracą swoje właściwości. Roztwory te były sterylizowane przez sączenie wyjaławiające, przy użyciu sączek membranowych apirogennych, o średnicy $0,22\mu\text{m}$ [16].

Po dodaniu do sporządzonych formulacji roztworów polisorbatów, żele umieszczono w lodówce na 48 godzin. Po upływie tego czasu badano ich właściwości. Skład otrzymanych formulacji zestawiono w tabeli 1. Badania dostępności farmaceutycznej pro-

TABELA 1. Skład badanych formulacji

TABLE 1. Composition of the tested formulations

Wersja formulacji Version of formulation	Zawartość [%]/Content [%]				
	Pluronic F-127	Dekstran 7000	PEG 400	Tween 20	Tween 80
1	16	–	0,5	0,025	–
2	16	–	0,5	–	0,005
3	16	–	–	0,025	–
4	16	–	–	–	0,005
5	16	0,5	–	0,025	–
6	16	0,5	–	–	0,005
7	16	0,5	0,5	–	–
8	16	0,5	0,5	0,025	–
9	16	0,5	0,5	–	0,005
10	16	0,5	–	–	–

laktyny wykonano po wprowadzeniu do proponowanych podłoży białka, tak by jego stężenie wynosiło 1 mg/ml nośnika.

Oznaczenie pH

Do pomiaru odczynu pH podłoży wykorzystano wielofunkcyjny przyrząd komputerowy Elmetron CX-743 z elektrodą zespoloną typu ES AgP-301. Dla każdej formułacji wykonano trzykrotnie pomiar pH w temp. $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, a następnie obliczono średnią wartość.

Pomiar osmomolarności

Ciśnienie osmotyczne przygotowanych formułacji wyznaczono przy pomocy osmometru Marcel OS 3000, który wcześniej kalibrowano przy użyciu roztworów wzorcowych o ciśnieniu osmotycznym równym 0 i 400 mOsm/kg. Do badań pobierano za pomocą pipety automatycznej po 100 μl wybranego podłoża. Próbkę umieszczano w aparacie, doprowadzając je do stanu przechłodzenia. Pomiar osmomolarności dla każdej formułacji wykonywano trzykrotnie i obliczono wartość średnią ciśnienia osmotycznego.

Pomiar gęstości

Pomiary gęstości przygotowanych formułacji wykonano według metody przedstawionej w FP VI. W tym celu posłużono się piknometrem o objętości 10 ml. Na wadze analitycznej z dokładnością do 0,001 g zważono piknometr wypełniony wodą, a następnie wypełniony określonym podłożem. Gęstość obliczono według następującego wzoru:

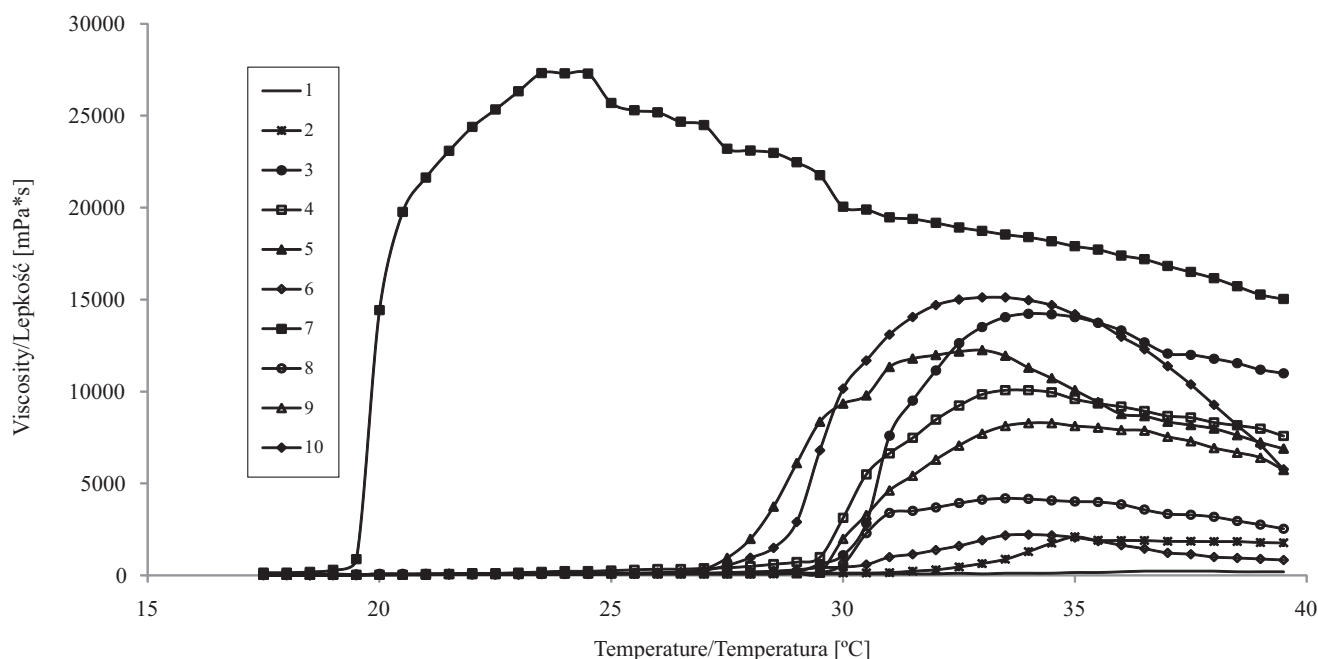
$$d_{20} = \frac{m}{w} \times 0,977 + 0,0012 \left[\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right];$$

gdzie: d_{20} – oznacza gęstość wyrażoną w g/ml w temp. 20°C ; m – oznacza masę badanej substancji wyrażoną w g, oznaczoną w powietrzu w temp. 20°C ; w – jest masą wyrażoną w g tej samej objętości wody, oznaczoną w temp. 20°C ; 0,977 – określa gęstość wody w temp. 20°C , a 0,0012 – jest poprawką na ważenie w powietrzu.

Pomiar gęstości dla każdej próbki wykonywano sześciokrotnie, po czym obliczono wartość średnią.

Wyznaczanie temperatury przejścia fazowego zol-żel

Temperaturę przejścia fazowego zol-żel dla poszczególnych formułacji, wyznaczono na podstawie rejestrowanych zmian lepkości dynamicznej. W projektowanych badaniach reologicznych przyjęto, iż



Ryc. 1. Zależność lepkości od temperatury przy szybkości ścinania 10 obrotów/sekundę dla formułacji nie zawierających prolaktyny

FIG. 1. Changes in viscosity of formulation at shear rate of 10 s^{-1} for formulation without prolactin

otrzymaną temperaturą przejścia fazowego jest temperatura, przy której w warunkach badania odnotowano największy przyrost lepkości formułacji. Pomiar prowadzono przy użyciu reometru Brookfield DV-III w zakresie temperatur 17,5–40°C, przy stałej szybkości ścinania, wynoszącej 10 obrotów/sekundę. Wyniki przedstawiono na rycinie 1.

Badanie dostępności farmaceutycznej prolaktyny z formułacji

Badanie dostępności farmaceutycznej prolaktyny z przygotowanych podłoży wykonano metodą membranową, przy wykorzystaniu komór dyfuzyjnych typu Franz'a w temp. $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ do buforu fosforanowego o pH 7,4. Przed przystąpieniem do badań błonę dializacyjną zanurzono na 30 minut w wymienionym buforze. Komory Franz'a umieszczono na mieszadle magnetycznym, zapewniającym mieszanie płynu akceptorowego w komorze do uwalniania ze stałą szybkością wynoszącą 100 obrotów/minutę. Próbkę preparatów zawierające 1 mg/ml prolaktyny przed nałożeniem na błonę, ważono na wadze analitycznej Sartorius z dokładnością do 0,001 g. Poszczególne frakcje zawierające uwolnioną prolaktynę odbierano w 30 minutowych odstępach przez 240 minut. Dla każdej z przygotowanych formułacji przeprowadzono badanie dostępności farmaceutycznej

w sześciu równoległych próbach. Ilość uwolnionej prolaktyny oznaczono metodą spektrofotometryczną przy wyznaczonej analitycznej długości fali λ , wynoszącej 298nm.

Na podstawie sporządzonej krzywej wzorcowej, obrazującej zależność absorbancji od stężenia substancji ($y = 0,027 - 0,3542x$, $r^2 = 0,9803$), obliczono ilość uwolnionej prolaktyny w czasie. Wyniki badań dostępności farmaceutycznej prolaktyny z formułacji opracowano w programie komputerowym STATISTICA i zebrano w tabeli 3.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Ocenie poddano dziesięć podłoży zawierających 16% Pluronicu F-127 z dodatkiem wybranych substancji pomocniczych. Sporządzone formułacje zachowały płynną konsystencję, zarówno podczas ich przechowywania w lodówce w temperaturze 4°C, jak i w temperaturze pokojowej. Wszystkie podłoża posiadały wartość pH zbliżoną do wartości odczynu płynów fizjologicznych, w zakresie pH 7,21–7,41. Takie pH w przypadku podawanego pozajelitowo leku jest korzystne, ze względu na ograniczenie możliwości wystąpienia podczas iniekcji działań niepożądanych, tj. bolesność czy zapalenie tkanek. Średnie wyznaczone wartości odczynu pH otrzymanych formułacji przedstawiono w tabeli 2.

TABELA 2. Wyznaczone wartości pH, gęstości i ciśnienia osmotycznego dla sporządzonych formułacji

TABLE 2. pH, density and osmotic pressure values for prepared formulations

Wersja formułacji Version of formulation	pH $X \pm S. D.$	Gęstość/Density (g/ml) $X \pm S. D.$	Ciśnienie osmotyczne/ /Osmotic pressure (mOsm/kg) $X \pm S. D.$
1	7,217 $\pm$ 0,0030	0,8633 $\pm$ 0,0006	759,33 $\pm$ 7,024
2	7,261 $\pm$ 0,0036	1,0266 $\pm$ 0,0006	749,66 $\pm$ 3,512
3	7,411 $\pm$ 0,0055	0,8383 $\pm$ 0,0006	699,00 $\pm$ 10,536
4	7,363 $\pm$ 0,0055	0,8716 $\pm$ 0,0015	637,66 $\pm$ 2,517
5	7,371 $\pm$ 0,0032	0,8653 $\pm$ 0,0006	789,00 $\pm$ 6,557
6	7,335 $\pm$ 0,0045	0,8693 $\pm$ 0,0006	721,00 $\pm$ 4,582
7	7,210 $\pm$ 0,0062	1,0430 $\pm$ 0,0010	847,66 $\pm$ 0,577
8	7,299 $\pm$ 0,0035	0,8750 $\pm$ 0,0010	699,00 $\pm$ 6,557
9	7,303 $\pm$ 0,0045	0,8706 $\pm$ 0,0006	845,00 $\pm$ 3,605
10	7,304 $\pm$ 0,0060	0,8726 $\pm$ 0,0011	678,66 $\pm$ 6,506

Zgodnie z wymogami farmakopealnymi, leki do podania pozajelitowego powinny posiadać ciśnienie osmotyczne zbliżone do ciśnienia osmotycznego płynów fizjologicznych, w granicach 280–320 mOsm/kg. Taka wartość osmolarności formulacji nie powoduje drażnienia tkanek. Farmakopea zezwala jednak na ewentualne krótkotrwałe podawanie iniekcji hiperosmotycznych. Wszystkie sporządzone preparaty były hiperosmotyczne (ciśnienie osmotyczne w granicach 637–848 mOsm/kg) ze względu na samą izosmolarność zastosowanego buforu fosforanowego (296 mOsm/kg). Najwyższą wartość ciśnienia osmotycznego posiadały formulacje 7 i 9, zawierające obok Pluronicu, dodatek dekstranu i PEG 400. Najniższą wartość ciśnienia osmotycznego, równą 637 mOsm/kg posiadała formuacja 4, otrzymana z dodatkiem Tweenu 80. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż znacząco na wzrost osmolarności formulacji wpłynął dodatek PEG 400. Średnie wartości ciśnienia osmotycznego badanych preparatów przedstawiono w tabeli 2.

Pomiary gęstości wykonano dla każdej formuacji sześciokrotnie w piknometrze w temperaturze 20°C. Średnie wartości gęstości badanych podłoży zestawiono w tabeli 1. Gęstość przygotowanych formuacji mieściła się w zakresie 0,838–1,043 g/ml. Najniższą gęstość posiadała formuacja 3 uzyskana z dodatkiem z Tweenu 20. Największą gęstością charakteryzowały się formuacje 2 i 7 zawierające dodatek PEG.

Na podstawie otrzymanych wyników można zauważyć, iż formuacje, które zawierały obok Pluronicu w swoim składzie Tween 20, charakteryzowały się najniższymi wartościami gęstości. Otrzymane wartości gęstości zostały porównane z danymi zamieszczonymi w piśmiennictwie. Gęstość podawanego domięśniowo olejowego roztworu benzoesu estradiolu wynosi w temp. 20°C, 0,9625 g/ml [17]. Porównanie wartości gęstości badanych formuacji z wymienionym, wstrzykiwanym domięśniowo olejowym roztworem pozwala przypuszczać, iż ich podanie w iniekcji nie będzie stwarzać niedogodności i powodować bólu w trakcie aplikacji.

Najwyższe wyznaczone temperatury przejścia fazowego zol-żel na podstawie rejestrowanych zmian lepkości dynamicznej, przy stałej szybkości ścinania wynoszącej 10 obrotów/sekundę odnotowano dla formuacji 3, 4, 8 i 9. Temperatury przejść fazowych tych formuacji mieściły się w zakresie 30,0–31,0°C. W składzie wymienionych nośników występowały polisorbaty, których dodatek wpływał na podwyższenie temperatury przejścia fazowego zol-żel. Podanie tych formuacji na drodze iniekcji do tkanki zmie-

nionej nowotworowo czy guza litego, może przynieść pożądane korzyści terapeutyczne, gdyż temperatura panująca w guzie nowotworowym jest wyższa aniżeli temperatura fizjologiczna ciała ludzkiego, co pozwala w tym przypadku na uzyskanie żelu o większej lepkości.

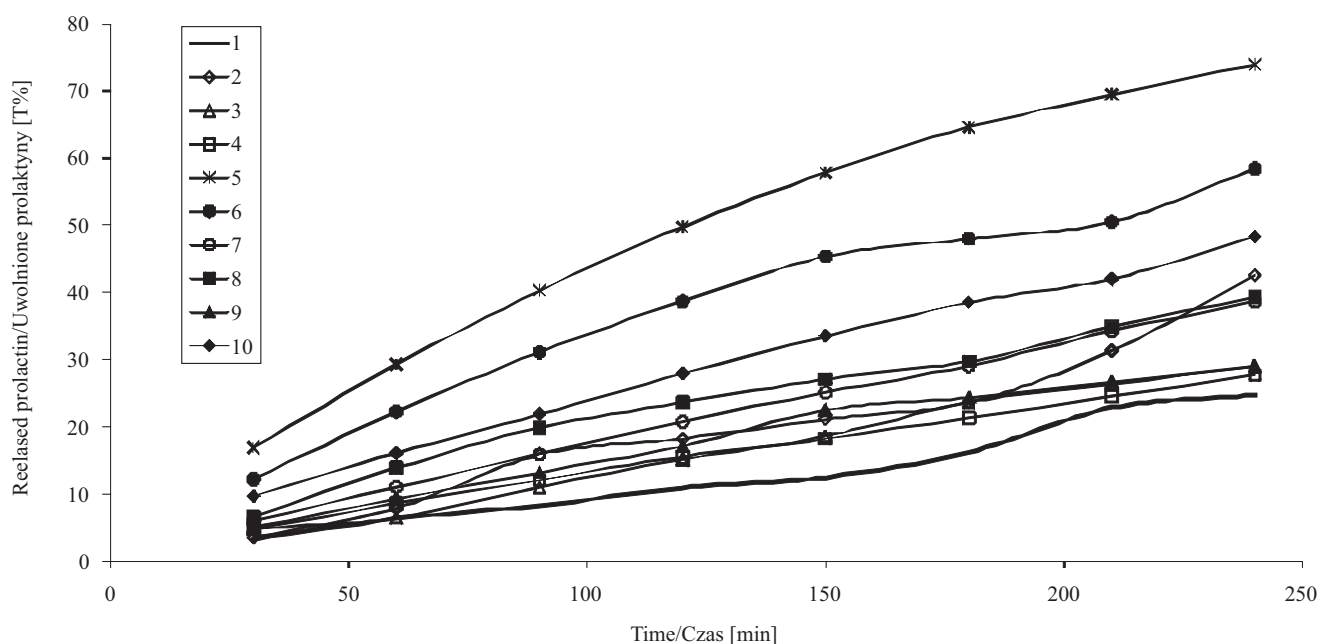
Odnotowana wysoka lepkość formulacji w temperaturze 37°C, pozwala po iniekcji preparatu do guza na przedłużenie uwalniania substancji leczniczej z depozytu żelu utworzonego w zmienionej tkance. Zmiany lepkości oraz temperatury przejść fazowych zol-żel przygotowanych formuacji, mierzone przy stałej szybkości ścinania i rosnącej temperaturze, przedstawiono na rycinie 1. Najmniejszą lepkość w fazie żelu odnotowano w warunkach badania dla formuacji 1 zawierającej obok Pluronicu dodatek PEG i Tween (w zakresie 76,32–228,96 mPa*s). Największymi wartościami lepkości charakteryzują się formuacje zawierające jako składową dekstran. Nośnik 7 otrzymany bez dodatku Tweenów, nie spełnia oczekiwań stawianych pozajelitowej postaci leku o zwiększonej lepkości, gdyż jego przemiana zol-żel zachodzi w temperaturze bliskiej temperaturze pokojowej, co może utrudnić podawanie tego preparatu na drodze iniekcji. Wprowadzenie Tweenów do formuacji, spowodowało korzystne przesunięcie temperatury przejścia fazowego zol-żel uzyskanych nośników w stronę temperatury fizjologicznej.

Proces uwalniania prolaktyny ze sporządzonych formuacji przebiegał zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu. Najwolniej substancja ta uwalniała się z formuacji 1, zawierającej Pluronic F-127, PEG i Tween 20. Po upływie 240 minut, ze wspomnianego hydrożelu uwolniło się 24,77% dawki początkowej prolaktyny. Największą dostępność farmaceutyczną prolaktyny odpowiednio 73,96% i 58,44% uzyskano z formuacji zawierających obok Pluronicu dodatek dekstranu oraz Tweenu 20 lub 80 (formuacja 5 i 6).

Analizując wyniki można stwierdzić, iż formuacje: 3 (Pluronic 16%, Tween 20) i 4 (Pluronic 16%, Tween 80), po upływie 4 godzin uwalniały zbliżone ilości prolaktyny, wynoszące 29,12% i 27,73%. Przebieg procesu uwalniania prolaktyny z przygotowanych formuacji przedstawiono na rycinie 2 i w tabeli 3. Porównując dane z badań dostępności farmaceutycznej można stwierdzić, iż wyraźnie na wzrost szybkości uwalniania prolaktyny z formuacji wpływał dodatek dekstranu. Wysoki stopień uwalniania białka z uzyskanych nośników należy również wiązać z ich hiperosmolarnością, która przyczynia się do większej zdolności ściągania wody do formuacji, powoduje szybsze jej uwodnienie i w następstwie wzrost uwalniania.

TABELA 3. Interpretacja procesu uwalniania prolaktyny z otrzymanych formułacji w oparciu o kinetykę I rzędu
TABLE 3. Interpretation of the prolactin release process on the basis first-order kinetic model

Wersja formułacji Version of formulation	Równanie kinetyki I rzędu First-Order Kinetics Equation	R ²	K [min ⁻¹]	T _{0,5} [min]
1	$Y = -0,0012 x + 4,6220$	0,9541	0,0012	577,50
2	$Y = -0,0022 x + 4,6542$	0,9182	0,0022	315,00
3	$Y = -0,0015 x + 4,6157$	0,9924	0,0015	462,00
4	$Y = -0,0013 x + 4,5935$	0,9993	0,0013	533,08
5	$Y = -0,0056 x + 4,5868$	0,9995	0,0056	123,75
6	$Y = -0,0034 x + 4,5470$	0,9825	0,0034	203,82
7	$Y = -0,0020 x + 4,6104$	0,9974	0,0020	346,50
8	$Y = -0,0019 x + 4,5767$	0,9898	0,0019	364,74
9	$Y = -0,0014 x + 4,5889$	0,9877	0,0014	495,00
10	$Y = -0,0026 x + 4,5868$	0,9971	0,0026	266,54



RYC. 2. Przebieg procesu uwalniania prolaktyny z formułacji w czasie

FIG. 2. The course of prolactin release from formulation at time

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, iż w zależności od składu uzyskanych formułacji możliwe jest otrzymanie nośników, które posiadają temperaturę przejścia fazowego zol-żel w zakresie temperatury ciała ludzkiego, a w fazie żelu w miejscu wstrzyknięcia stanowią lepkie układy, które mogą uwalniać prolaktynę z różną szybkością.

WNIOSKI

1. Gęstość, pH i ciśnienie osmotyczne opracowanych formułacji, spełniają wymogi farmakopealne stawiane podawanym pozajelitowym postaciom leku.

2. Największą dostępność farmaceutyczną prolaktyny, uzyskano z formulacji zawierających obok Pluronicu F-127 dodatek dekstranu i polisorbatów.
3. Poprzez odpowiedni dobór substancji pomocniczych stosowanych do otrzymywania formulacji termowrażliwych z prolaktyną, można modyfikować temperaturę przejścia fazowego żol-żel uzyskanych układów, lepkość w fazie żelu i uzyskiwać nośniki o pożądanym uwalnianiu białka w miejscu wstrzyknięcia.

LITERATURA

- [1] KIELAR M., TRĘBACZ E., KAWALEC P.: Leki proteinowe i peptydowe. Terapeutyczne zastosowanie polimerów PSA i mPEG. *Lek w Pol.* (2006), 16, 70–76.
- [2] JACHOWICZ R.: Możliwości technologii postaci leku w rozwiązywaniu skutecznej terapii lekami peptydowymi. *Farm. Pol.* (1997), 53, 584–588.
- [3] RADOMSKA A., DOBRUCKI R.: Mikroemulsje jako potencjalne nośniki substancji leczniczych w preparatach farmaceutycznych. *Farm. Pol.* (2002), 58, 218–225.
- [4] MICHALIK J., BARTOSZEWICZ Z.: Prolaktyna – wielofunkcyjny, przysadkowy hormon Peptydowy. *Post. Biochem.* (2002), 48, 296–305.
- [5] NGOC-QUYNTH N., NGUYEN S., TABURYN P.: Prolactin growth hormone derived antiangiogenic peptides highlight a potential role of tilted peptides in angiogenesis. *Biochem.* (2006), 103, 14319–14324.
- [6] UEDA E., OZERDEM U., CHEN Y. H.: A molecular mimic demonstrates that phosphorylated human prolactin is a potent anti – angiogenic hormone. *Edocr. Rel. Canc.* (2006), 13, 95–111.
- [7] DUENAS Z., TORNER L., CORBACHO A. M.: Inhibition of rat corneal angiogenesis by 16-kDa prolactin and by endogenous prolactin-like molecules. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* (1999), 40, 2498–2505.
- [8] STRUMAN I., BENTZIEN F., LEE H.: Opposing actions of intact and N-terminal fragments of the human prolactin/growth hormone family members on angiogenesis: An efficient mechanism for the regulation of angiogenesis. *Biochem.* (1999), 96, 1246–1251.
- [9] GONZALEZ C., CORBACHO A. M., EISERICH J.: 16-K prolactin inhibits activation of endothelial nitric oxide synthase, intracellular calcium mobilization, and endothelium – dependent vasorelaxation. *Endocrinol.* (2004), 145, 5714–5722.
- [10] PLUTA J., KAROLEWICZ B.: Termowrażliwe polimery w technologii postaci leku. Możliwości zastosowania polimerów termowrażliwych jako nośników substancji leczniczej. *Polim. Med.* (2008), 1, 3–14.
- [11] ESCOBAR-CHAVEZ J. J., LOPEZ-CERVANTES M., NAIK A.: Applications of thermo-reversible gels in pharmaceutical formulations. *J. Pharm.* (2006), 9, 339–358.
- [12] KABANOV A., LEMIEUX P., VINOGRADOV S.: Pluronic block copolymers and functional molecules for gene therapy. *Adv. D. Del. Rev.* (2002), 54, 223–233.
- [13] PLUTA J., KAROLEWICZ B.: Badania *in vitro* właściwości termowrażliwych układów otrzymywanych na bazie Pluronicu F-127, jako nośników metotreksatu podawanego w postaci iniekcji do łitego guza nowotworowego. *Pol. w Med.* (2006), 36, 37–53.
- [14] KABANOV A., BATRAKOVA E., MILLER W. D.: Pluronic block copolymers as modulators of drug efflux and their activity in the blood – brain barrier. *Adv. Drug Del. Rev.* (2003), 55, 151–164.
- [15] Farmakopea Polska wydanie VIII. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, Warszawa 2008.
- [16] Technical Information: Pluronic F-127, BASF The Chemical Company, www.pharma-solutions.basf.com.
- [17] PLUTA J., KAROLEWICZ B.: Badania *in vitro* właściwości termowrażliwych układów otrzymywanych na bazie Pluronicu F-127, jako nośników metotreksatu podawanego w postaci iniekcji do łitego guza nowotworowego. *Pol. Med.*, 2006, 36, 37–53.

Adres do korespondencji

Bożena Karolewicz
Katedra Technologii Postaci Leku
Akademia Medyczna we Wrocławiu
51-124 Wrocław, ul. Szewska 38
tel. 071 784 03 15
e-mail: bozkar@ktpl.am.wroc.pl

