

PEO-PPO-PEO triblok kopolimeri

Pepić, Ivan

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2005, 61, 132 - 152**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:151962>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



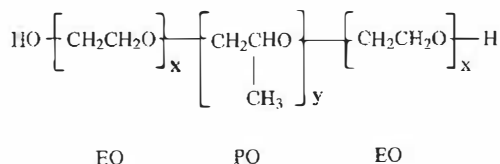
PEO-PPO-PEO triblok kopolimeri

IVAN PEPIĆ

Zavod za farmaceutsku tehnologiju Farmaceutsko-biokemijskog
fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

1. Struktura i nomenklatura

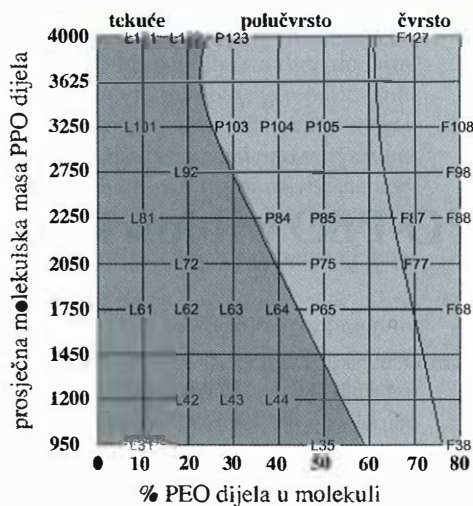
PEO-PPO-PEO triblok kopolimeri pripadaju skupini simetričnih, amfifilnih, neionskih, makromolekulskih površinski aktivnih tvari. Građeni su od hidrofobnog središnjeg polipropilenoksidnog dijela (PPO) te postraničnih hidrofilnih polietilenoksidnih dijelova (PEO) (1). Opća je molekulska formula takvih triblok kopolimera $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_x(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_y(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_x$, dok slika 1 prikazuje opću strukturnu formulu.



Slika 1. Opća strukturna formula PEO-PPO-PEO triblok kopolimera (2)

Neki su iz skupine triblok kopolimera oficinalne pomoćne ljekovite tvari s generičkim imenima *poloksameri* (3, 4). Budući da su komercijalno dostupni, na tržištu imaju različita zaštićena imena: *Lutrol*, *Monolan*, *Pluronic*, *Suptronic*, *Synperonic* (5). Promjenama kopolimernog sastava (PEO/PPO omjer) i molekulske mase (duljina PPO i PEO dijela) pri sintezi nastaju makromolekule optimalnih svojstava, koje udovoljavaju specifičnim zahtjevima različitih tehnoloških područja, a razvrstani su u tzv. *mrežu* (slika 2). Kopolimeri duž vertikalnih linija imaju isti PEO/PPO sastav, dok kopolimeri na horizontalnim linijama imaju jednaku duljinu PPO dijela (1).

U nomenklaturi kopolimera postoje jednostavna pravila, tako da već samo ime (generičko ili zaštićeno) odaje glavna svojstva molekulske arhitekture. Nakon generičkog imena *poloksamer* slijedi troznamenasti broj; prve dvije znamenke pomnožene sa 100 daju približnu relativnu molekulsku masu PPO dijela, dok treća znamenka pomnožena sa 10 odgovara masenom postotku PEO u molekuli (5). Vrlo se često u literaturi kopolimeri svrstavaju prema svojim zaštićenim imenima određenom logikom. Zaštiće-



Slika 2. PEO-PPO-PEO triblok kopolimeri organizirani u mrežu (1)

no ime uključuje slova koja govore o agregatnom stanju kopolimera: L (*liquid*), P (*paste*), F (*flakes*); te dvo- ili troznamenasti broj, u kojem zadnja znamenka označava prosječni maseni udio PEO u postocima. Preostala znamenka ili prve dvije daju prosječnu molekulsku masu središnjeg PPO dijela izraženu u Da nakon množenja s 300. Poznavajući takva pravila mogu se odrediti osnovna svojstva kopolimera u nedostatku literaturnih podataka. Tako zaštićeno ime Pluronic• **F127** definira kopolimer u čvrstom agregatnom stanju (F) prosječne molekulske mase PPO dijela 3600 Da (12×300) i masenog udjela PEO dijela 70% (1).

2. Uporaba

PEO-PPO-PEO kopolimeri čine važnu skupinu površinski aktivnih tvari rasprostranjene primjene u mnogim industrijskim granama (npr. u industriji plastike za održavanje kompatibilnosti polimernih smjesa; u keramičkoj i metalnoj industriji kao sredstva za čišćenje posebnih površina; u sredstvima za pranje rublja kao ekološki prihvatljivi stabilizatori u odnosu na fosfate; u poljoprivrednim emulzijama i disperzijama za zaštitno oblaganje bilja; u fotografskim emulzijama za prilagođavanje disperznosti; te kao sredstva za zaštitno oblaganje boja i tinte za tiskanje) (6). Osim toga, nalaze primjenu u postupcima odvajanja organskih komponenta solubilizacijom u vodenoj sredini, a vrlo su korisni i u biotehnologiji za zaštitu mikroorganizama od mehaničkih oštećenja (7).

U farmaciji se PEO-PPO-PEO kopolimeri upotrebljavaju u standardnim ljekovitim oblicima, ali isto tako zauzimaju istaknuto mjesto u kreiranju novih oblika i terapijskih sustava. Pri oblikovanju standardnih ljekovitih pripravaka upotrebljavaju se L44, F68, F87, F108 i F127 kao emulgatori (u parenteralnim emulzijama), solubilizatori (za postizanje i održavanje bistrine otopina), sredstva za močenje (u stabiliziranju suspenzija);

sredstva za vezivanje, kliženje i oblaganje pri izradi tableta. Osim toga, mogu biti sastavni dio supozitориjske podloge, primijenjeni oralno u kombinaciji s laksansima mogu se primijeniti u terapiji opstipacije, dok u kapima za oči imaju ulogu ovlaživača (5). Međutim, PEO-PPO-PEO kopolimeri prelaze uobičajne okvire osnovnih pomoćnih ljekovitih tvari, s obzirom na terapijsku indiferentnost u primijenjenim koncentracijama (8). Danas se sve više rabe u suvremenim ljekovitim oblicima i terapijskim sustavima, gdje čine bit samog oblika i bez kojih određeni pripravak ne bi niti postojao (9). Naime, pokazuju značajan učinak u aktivaciji imunološkog sustava (npr. F68, F127), inhibiraju stanične glikoproteine, ključne u rezistenciji tumora na citostatsku terapiju (npr. L121, L122), potiču stvaranje epidermalnog čimbenika rasta (npr. F127); zauzimaju važno mjesto u nanotehnologiji terapijskih sustava za ciljanu primjenu i/ili oslobađanje lijekova i dijagnostičkih sredstava (tablica 1) (5, 10, 11). Zbog navedenoga, skupina PEO-PPO-PEO kopolimera prelazi okvire klasičnog pojma kemijski jednostavnih i farmakološki inertnih pomoćnih ljekovitih tvari i nalazi svoje mjesto u novoj skupini tzv. funkcionalnih pomoćnih ljekovitih tvari koji jamče i poboljšavaju provođenje suvremene terapije (12).

Tablica 1. Primjeri moguće primjene PEOPPO-PEO kopolimera u medicini i farmaciji (10)

kopolimer	predložena primjena
F68	antitrombotik (učinak na reološka svojstva krvi), aktivacija fagocita (poticanje fagocitoze i stvaranja superoksidnog aniona), degranulacija neutrofila
L121/L122	nanotehnologija (ciljana primjena lijeka, terapija tumora rezistentnih na citostatike, medicinska dijagnostika limfnih čvorova pomoću limfotropnih nanočestica)
F127	dugocirkulirajuće čestice, gelovi s produljenim oslobađanjem lijeka; poticanje makrofaga i stvaranja epidermalnog čimbenika rasta

3. Fizikalno-kemijska svojstva i fazni prijelazi u vodenoj sredini

PEO-PPO-PEO kopolimeri komercijalno su dostupni na tržištu u širokom rasponu molekulskih masa (1000-15000 Da) i PEO/PPO sastava (10-80% PEO udjela), iz čega proizlazi veliki opseg fizikalno-kemijskih svojstava. Neka osnovna fizikalno-kemijska svojstva (prosječna molekulska masa, udio PEO dijela u molekuli, talište, viskoznost, površinska napetost, temperatura zamućenja vodenih otopina, HLB vrijednost) PEO-PPO-PEO kopolimera prikazuje tablica 2 (1).

Kopolimeri se međusobno razlikuju duljinama hidrofobnog (PPO) i hidrofilnih (PEO) dijelova, koji su definirani brojem ponavljanih jedinica, N_{PO} i N_{EO} . Kopolimeri dugog PPO dijela i kratkog PEO dijela su hidrofobni, i obrnuto, kopolimeri kratkog PPO dijela i dugog PEO dijela su hidrofilni. Omjer broja hidrofilnih (N_{PE}) i lipofilnih (N_{PO}) jedinica u kopolimernoj molekuli čini HLB-vrijednost (*hydrophilic-lipophilic balance*). Topljivost kopolimera u polarnim i nepolarnim otapalima ovisi o tipu kopolimerne molekule (tablica 3) (5). Budući da se ovi kopolimeri sastoje od hidrofobnog

(PPO) i hidrofilnog (PEO) dijela, tako je i otapalo selektivno za jedan dio kopolimerne molekule.

Točka smanjenja topljivosti ili točka zamućenja vodenih otopina (*cloud point*) temperatura je pri kojoj se kopolimerna faza odvaja od vodene, a temperaturno se područje proteže od približno 10°C (za kopolimere malog PEO udjela) do 100°C (za kopolimere visokog PEO udjela). Udio PEO dijela u kopolimernoj molekuli utječe na brzinu otapanja, koja je to manja što je PEO udio veći. Brzina se otapanja također smanjuje s povećanjem relativne molekulske mase kopolimera, za kopolimerne skupine istog PEO/PPO sastava. Takvo ponašanje vjerojatno ovisi o stupnju povezivanja kopolimernih molekula vodikovim vezama, a time se istodobno objašnjava i agregatno stanje kopolimera (kopolimeri niske molekulske mase i niskog PEO udjela u tekućem su agregatnom stanju, dok su oni s većom molekulskom masom i većim PEO udjelom u čvrstom agregatnom stanju). Pronalaženje veze emulgatorskih svojstava i molekulske kompozicije nije u potpunosti moguće, premda se može općenito reći da su kopolimeri visoke molekulske mase PPO dijela bolji emulgatori od njihovih niskomolekulskih analoga (1, 13).

Tablica 2. Fizikalno-kemijska svojstva PEO-PPO-PEO kopolimera (1, 14)

A	B	C	D	E	F	G	H	I
L31	101	1100	10	-32	175	46,9	37	5
L35	105	1900	50	7	375	49	73	18-23
F38	108	4700	80	48	260	52	>100	>24
L43	123	1850	30	-1	310	47	42	7-12
L44	124	2200	40	16	440	45	65	12-18
L61	181	2000	10	-29	325	/	24	3
L62	182	2500	20	-4	450	43	32	1-7
L64	184	2900	40	16	850	43	58	12-18
P65	185	3400	50	27	180	46	82	12-18
F68	188	8400	80	52	1000	50	>100	>24
F77	217	6600	70	48	480	47	>100	>24
L81	231	2750	10	-37	475	/	20	2
P84	234	4200	40	34	280	42	74	12-18
P85	235	4600	50	34	310	42	85	12-18
F87	237	7700	70	49	700	44	>100	>24
F88	238	11 400	80	54	2300	48	>100	>24
L92	282	3650	20	7	700	35,9	26	6
F98	288	13 000	80	58	2700	43	>100	>24
L101	331	3800	10	-23	800	/	15	1

A	B	C	D	E	F	G	H	I
P103	333	4950	30	30	285	34	86	7–12
P104	334	5900	40	32	390	33	81	12–18
P105	335	6500	50	35	750	39	91	12–18
F108	338	14 600	80	57	2800	41	>100	>24
L121	401	4400	10	5	1200	33	14	1
L122	402	5000	20	20	1750	33	19	1–7
P123	403	5750	30	31	350	34	90	7–12
F127	407	12600	70	56	3100	41	>100	18–23

A: zaštićeno ime (Pluronic®). B: generičko ime (poloksamer). C: prosječna molekulska masa. D: udio PEO (%). E: talište (°C). F: dinamička viskoznost (mPa s) (tekućine na 25°C, polukrutine na 60°C, krutine na 77°C). G: površinska napetost 0,1%-tne otopine na 25°C (mN/m). H: temperatura zamućenja 1%-tne vodene otopine (°C). I: HLB-vrijednost (*hydrophilic-lipophilic balance*).

Tablica 3. Topljivost oficinalnih PEO-PPO-PEO kopolimera u različitim otapalima (5)

kopolimer	otapalo				
	etanol (95%)	propan-2-ol	propilenglikol	voda	ksilen
L44	lako topljiv	lako topljiv	lako topljiv	lako topljiv	lako topljiv
F68	lako topljiv			lako topljiv	
F87	lako topljiv	teško topljiv		lako topljiv	teško topljiv
F108	lako topljiv		teško topljiv	lako topljiv	
F127	lako topljiv	lako topljiv		lako topljiv	

Zbog amfifilne se prirode PEO-PPO-PEO kopolimeri u otapalu samoorganiziraju stvarajući različite supramolekulske agregate u otopini ili na međupovršini faza u višefaznim sustavima. Na agregacijska svojstva utječu brojni čimbenici: prvenstveno koncentracija kopolimera u otopini i temperatura, ali i kopolimerni sastav, molekulska masa, druge površinski aktivne tvari, otapala različite polarnosti i elektroliti. U binarnom sustavu kopolimer-otapalo postoje područja koncentracija i temperatura kada su u otopini prisutni samo molekulske otopljeni kopolimeri. U nekom se drugom koncentracijskom i/ili temperaturnom području sustav samoorganizira u micelle ili u jednu od faza liotropnih tekućih kristala, a sve kao posljedica međudjelovanja kopolimera s molekulama otapala pri porastu koncentracije i/ili temperature.

Otapanjem PEO-PPO-PEO kopolimera u selektivnom otapalu mogu nastati micelle, heksagonalna, kubična, lamelarna, kao i inverzne micelle u vrlo koncentriranim otopinama. Naime, takve faze nastaju pri dovoljno visokim koncentracijama kopolimera slaganjem (*packing*) molekula u organiziranije strukture tekućih kristala. Neki

liotropni tekući kristali pokazuju i svojstva termotropnih tekućih kristala, tj. reverzibilni međufazni prijelazi nastaju povećanjem temperature pri konstantnoj kopolimernoj koncentraciji (npr. kubična→heksagonalna→lamelarna faza ili iz oblika izotropne otopine u različite mezofaze). Na slijed različitih mikrostrukture u faznom dijagramu većinom utječe kopolimerni sastav (PEO/PPO omjer). Tako u sustavu PEO/PPO omjera većeg od 0,5 nastaju sferične micelle za određeno područje koncentracija i temperatura. Povećanjem koncentracije i temperature nastaje npr. kubična faza u kojoj su sferične micelle pravilnije uređene u lokalnu kubičnu simetriju, dok otopina na makroskopskoj razini prelazi u transparentni, optički izotropni, viskoelastični gel (npr. 18–30%-tna F127 na 5°C viskozna je otopina koja na 20°C prelazi u gel). Daljnjim povećanjem koncentracije mogu nastupiti prijelazi ka heksagonalnoj i lamelarnoj fazi za neke kopolimere (npr. P104). Kopolimeri malog hidrofilnog dijela, tj. PEO/PPO omjera $\approx 0,25$ obično stvaraju heksagonalnu fazu kao prvu mezofazu tekućih kristala, dok je kod kopolimera PEO/PPO omjera $\approx 0,15$ nađena lamelarna faza kao prva mezofaza (15–17). Sustavi u kojima je prisutno drugo polarno ili nepolarno otapalo (ternarni sustavi) opisani su u literaturi (17–19), ali prelaze okvire ovoga rada.

4. PEO-PPO-PEO unimeri

Kada su PEO-PPO-PEO kopolimeri molekulsko otopljeni u sustavu bez supramolekulskih agregata, kaže se da su u obliku unimera. Bitna je značajka PEO-PPO-PEO unimera učinak na stanične transportne sustave (npr. P-glikoprotein) kojima su mnogi lijekovi supstrati. Transportni su sustavi široko rasprostranjeni u našem organizmu (tumorske i određene normalne stanice) i mogu bitno utjecati na apsorpciju, raspodjelu i eliminaciju različitih lijekova. Stoga je potrebno poznavati specifična međudjelovanja ljekovitih i pomoćnih ljekovitih tvari s takvim sustavima. PEO-PPO-PEO unimeri kandidati su za oblikovanje novih terapijskih sustava na osnovi inhibicije P-glikoproteina, a radi promjene farmakokinetičkih/ farmakodinamičnih svojstava različitih lijekova, poboljšanja farmakoterapijskog učinka i bolje suradnje s bolesnikom.

P-glikoprotein grade dvije funkcionalne podjedinice s veznim mjestima za adenozin-3-fosfat (ATP). Vezanjem ATP-a za jednu podjedinicu nastaju konformacijske promjene nužne za hidrolizu ATP-a i premještanje supstrata (lijeka) (2). Pretpostavljena su dva mehanizma inhibicije P-glikoproteina PEO-PPO-PEO unimerima.

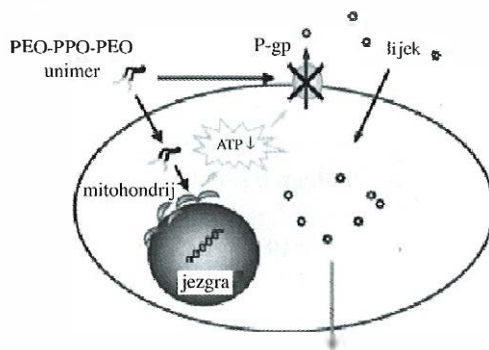
- *Međudjelovanje sa staničnom membranom i inhibicija ATP-azne aktivnosti*

Pretpostavljeno je međudjelovanje unimera s lipidnim dvoslojem pri kojem se mijenja mikroviskoznost i nastaju strukturne promjene stanične membrane. Kao posljedica toga onemogućene su konformacijske promjene P-glikoproteina, što smanjuje afinitet ATP-a za vezno mjesto i izravno interferira s ATP-aznom aktivnošću (2).

- *Smanjenje razine unutarstaničnog ATP-a*

Smanjenje se razine unutarstaničnog ATP-a smatra posljedicom inhibicije staničnog metabolizma. Budući da je mitohondrij odgovoran za većinu metaboličkih ak-

tivnosti stanice, tako se istražuju i mehanizmi povezani s tim organelom (20). Dokazano je da određeni unimeri smanjuju aktivnost elektronskog transportnog lanca u mitohondriju. Također je moguća izravna inhibicija NADH-dehidrogenaze međudjelovanjem s hidrofobnim dijelom kompleksa smještenog u mitohondrijskoj membrani (slika 3) (2, 21).



Slika 3. Mehanizmi inhibicije P-glikoproteina (P-gp) PEO-PPO-PEO unimerima (21)

Potrebno je istaknuti međuovisnosti pretpostavljenih mehanizama, tj. izdvojeni mehanizam ne bi bio dostatan za učinkovitu inhibiciju P-glikoproteina. Istodobno, unimeri pokazuju selektivnost inhibicije metaboličkih procesa prema stanicama s prekomjernom ekspresijom transportnih proteina u odnosu na druge stanice, što je povezano s toksičnošću i sigurnošću primjene PEO-PPO-PEO kopolimera (21).

4.1. Odnos molekuskog sastava kopolimera i inhibicije P-glikoproteina

PEO-PPO-PEO unimeri pokazuju različit učinak inhibicije s obzirom na molekulski sastav, odnosno duljinu hidrofobnog (PPO) i hidrofilnog (PEO) dijela molekule. Tako se izdvaja nekoliko skupina prikazanih tablicom 4 (21).

Uočljiva je veza broja ponavljanih PO jedinica (N_{PO}) kopolimerne molekule s učinkovitošću inhibicije P-glikoproteina. Hidrofobni kopolimeri II. skupine najjači su inhibitori P-glikoproteina. Hidrofobnim dijelom molekule ulaze u međudjelovanje s lipidnim dvoslojem stanične membrane, dok hidrofilni dijelovi sprječavaju vezanje drugih kopolimernih lanaca na staničnu membranu. Istodobno je pretpostavljena najbolja unutarstanična difuzija i učinkovita inhibicija metaboličkih procesa unutar stanice II. skupine (2).

Najmanje je učinkovita I. skupina kopolimera koja ne pokazuje djelovanje niti na jedan od predloženih mehanizama inhibicije. To se objašnjava vrlo dugim PEO dijelovima koji daju izrazito hidrofilna svojstva kopolimernoj molekuli. Iz takvih razloga kopolimeri ove skupine ne stupaju u međudjelovanje sa staničnom membranom niti difundiraju u stanicu.

Za hidrofobne kopolimere III a. skupine nađena je mogućnost prolaska u epitelne stanice krvno-moždane barijere. Međutim, ne utječu na fluidnost membrane, ne smanjuju razinu unutarstaničnog ATP-a niti inhibiraju ATP-aznu aktivnost. To se objaš-

Tablica 4. Klasifikacija PEO-PPO-PEO unimera s obzirom na inhibiciju P-glikoproteina (21)

skupina	broj ponavljanih PO jedinica u kopolimernoj molekuli (N_{PO})	HLB	primjer kopolimera (Pluronic®)	učinkovitost inhibicije P-glikoproteina
I. hidrofilni kopolimeri		20–29	F68, F88, F108, F127	ne pokazuju ili pokazuju vrlo slab učinak
II. hidrofobni kopolimeri	30–60	< 19	P85, P81, L61	<i>pokazuju najjači učinak</i>
III a. hidrofobni kopolimeri	<30	<19	L35, L43, L44	pokazuju znatno slabiji učinak u odnosu na II. skupinu
III b. hidrofobni kopolimeri	>60	<19	L121	pokazuju znatno slabiji učinak u odnosu na II. skupinu

njava relativno malom molekulskom masom kopolimera i relativno kratkim hidrofobnim dijelom. Zbog toga kopolimeri ne mogu izazvati značajnije strukturne promjene stanične membrane, iako s njom dolaze u izravni dodir.

Konačno, hidrofobni kopolimeri III b. skupine mogu utjecati na fluidnost membrane s obzirom na vrlo dugi PPO dio, ali ne prodiru u stanicu zbog jakih hidrofobnih međudjelovanja s membranom i ne uzrokuju značajniju inhibiciju P-glikoproteina (21).

4.2. Odnos koncentracije kopolimera i inhibicije P-glikoproteina

U istraživanjima na različitim staničnim linijama (tumorske stanice, epitelne stanice tankog crijeva, epitelne stanice mikroresica krvno-moždane barijere) dokazana je povezanost inhibicije P-glikoproteina s koncentracijom PEO-PPO-PEO kopolimera. Naime, koncentracijsko je područje prije kritične micelizacijske koncentracije (cmc) odgovorno za inhibiciju. Budući da su u otopini prije cmc vrijednosti prisutni molekularno otopljeni unimeri, može se zaključiti da su oni odgovorni za inhibiciju P-glikoproteina. Pri koncentraciji se PEO-PPO-PEO kopolimera u sustavu iznad cmc vrijednosti stvaraju micelle. U takvom su sustavu hidrofobni dijelovi u jezgri micelle okružene hidrofilnim dijelovima usmjerenim prema vodenoj sredini. Na taj način onemogućeno je međudjelovanje hidrofobnih dijelova kopolimera i staničnih struktura. U prvom je procjeni cmc vrijednost obrnuto proporcionalna broju hidrofobnih skupina (N_{PO}) PEO-PPO-PEO kopolimera. Zbog toga kopolimeri vrlo dugog PPO dijela i kratkog PEO dijela (III b. skupina) imaju vrlo niske cmc vrijednosti. Time je ograničena učinkovita koncentracija unimera u otopini, koja mora biti manja od cmc vrijednosti kako

bi se izbjeglo stvaranje micela. S druge strane, kopolimeri kratkog PPO dijela (III a. skupina) imaju visoke cmc vrijednosti pa koncentracija unimera u otopini može biti znatno veća. Međutim, učinkovitost je inhibicije prethodnih dviju skupina neznatna, što je obrazloženo u prethodnom poglavlju.

Optimalnu učinkovitost imaju PEO-PPO-PEO kopolimeri srednje duljine PPO dijela i relativno kratkog PEO dijela (II. skupina). Takvi unimeri pokazuju najjaču inhibiciju P-glikoproteina, a istodobno cmc vrijednosti omogućuju postizanje relativno visokih koncentracija unimera u otopini (22).

Valja zaključiti da hidrofobno-hidrofilna svojstva PEO-PPO-PEO triblok kopolimera određuju složenu ravnotežu, ključnu u međudjelovanju sa stanicama i biološkim makromolekulama.

4.3. Mogućnost primjene PEO-PPO-PEO unimera

Mogućnost primjene PEO-PPO-PEO unimera u ljekovitim oblicima upravo proizlazi iz inhibicije transportnih sustava za lijekove.

- *Citostatska terapija*

Tumorske stanice s MDR (*multidrug resistance*) fenotipom najsloženiji su oblik karcinogenog oboljenja s obzirom na citostatsku terapiju. Takve stanice imaju prekomjernu ekspresiju gena za proteine koji pripadaju superporodici ABC (*ATP binding cassette*) proteina, kao što su P-glikoprotein ili MRP (*multidrug resistance associated proteins*) proteini. Takvi transportni sustavi crpe lijek iz stanice u izvanstanični prostor i omogućuju postizanje učinkovite koncentracije lijeka u tumorskoj stanici, odnosno željeni terapijski učinak. MDR stanični fenotip ima prekomjernu ekspresiju gena za još neke proteine (glutation-S-transferaza, topoizomeraza I i II) koji pridonose tumorskoj rezistenciji. Upravo kombinacija različitih mehanizama čini terapiju složenom i naglašava potrebu za razvojem novih lijekova i/ili sustava za primjenu lijeka radi rješavanja problema rezistencije tumora na citostatsku terapiju (2).

PEO-PPO-PEO unimeri koji učinkovito inhibiraju P-glikoproteine, pokazuju obećavajuće rezultate i u inhibiranju drugih mehanizama tumorske rezistencije. Tako se oblik sa smjesom L61/F127 i doksorubicinom nalazi u kliničkim ispitivanjima (21, 23).

- *Poboljšanje oralne i cerebralne bioraspoloživosti*

Povećanu ekspresiju gena za transportne proteine imaju i normalne stanice našeg organizma. Tako je P-glikoprotein prisutan na apikalnoj membrani epitelnih stanica krvno-moždane barijere, testisa, placente, jetre i tankog crijeva.

P-glikoprotein u intestinalnom epitelu umanjuje apsorpciju lijekova koji su mu supstrati i tako utječe na oralnu bioraspoloživost. Antitumorski lijek paklitaksel upravo stoga ima nezadovoljavajuću bioraspoloživost nakon peroralne primjene (24). Kombiniranjem paklitaksela (supstrat P-glikoproteina) i P85 unimera povećava se apsorpcija u pokusima *in vitro* (25). Tako se otvara mogućnost peroralne primjene paklitaksela, koja je jednostavnija, jeftinija i bolje je prihvaćaju bolesnici.

Istraživanja *in vitro* i *in vivo* pokazuju povećanu cerebralnu raspodjelu digoksina u sustavu s P85 unimerima zbog inhibicije P-glikoproteina, pa je zaključeno da takav sustav može biti uspješan za primjenu lijeka u središnji živčani sustav (26). U sličnim je istraživanjima *in vitro* također dokazana povećana permeabilnost za lijekove – supstrate P-glikoproteina (npr. doksorubicin, ritonavir, paklitaksel, vinblastin) u kombinaciji s P85 unimerima (21).

5. PEO-PPO-PEO micelle

Samoorganiziranje kopolimera u vodenoj sredini posljedica je međudjelovanja s vodom i međudjelovanja samih kopolimernih molekula.

PEO dio dobro je topljiv u vodi i dobro hidratiziran zbog strukturnog podudaranja vode i ovoga dijela kopolimerne molekule. Negativna entalpija i entropija smjese vode i PEO dijela upućuje na povećanje stupnja uredenosti molekula vode oko ovih dijelova kopolimerne molekule. Pri temperaturi znatno nižoj od sobne, hidrofobni PPO dio u vodi također stvara hidratacijski omotač, no slabijih međudjelovanja. Prisutnost hidrofobnog dijela smanjuje entropiju vode povećavajući stupanj uredenosti molekula vode. Međutim, povećavajući koncentraciju kopolimera pri konstantnoj temperaturi, PPO se dio dehidratizira zbog uspostavljanja hidrofobnih međudjelovanja i konačno pri kritičnoj micelizacijskoj koncentraciji nastaju micelle, a povećava se entropija vode. S druge strane, pri konstantnoj koncentraciji kopolimera ($c < cmc$), a povećanjem temperature ponovno se dehidratizira hidrofobni dio, narušava stupanj uredenosti vode oko hidrofilnog dijela, uspostavljaju se hidrofobna međudjelovanja, povećava entropija vode i stvaraju micelle pri kritičnoj micelizacijskoj temperaturi (cmt).

Istodobno su međudjelovanja EO-EO, PO-PO i EO-PO ovisna o temperaturi. Progresivno je manje odbijajne PO i EO monomera s povećanjem temperature. Tako pri određenoj temperaturi učinkovita PO-PO privlačna međudjelovanja nadvladaju EO-EO odbijajuća, što pridonosi stvaranju micela. Za kopolimere iste duljine PPO dijela i promjenjive duljine PEO dijela (npr. P103, P104, P105, F108) standardna se entalpija micelizacije mijenja za oko 15% s povećanjem broja EO jedinica od 2×17 do 2×132 . S druge strane, kopolimerima iste duljine PEO dijela i promjenjive duljine PPO dijela (npr. P65, P84, P123) standardna se entalpija micelizacije povećava za oko 100% s povećanjem broja PO jedinica od 30 do 70 (tablica 5). Općeniti je zaključak da je dehidratacija PPO dijela i uspostavljanje hidrofobnih međudjelovanja ograničavajući korak u procesu micelizacije, odnosno micelizacija je kontrolirana hidrofobnim dijelom kopolimerne molekule (1, 7, 27, 28).

Kinetika asocijacije i disocijacije PEO-PPO-PEO micela objašnjava se brzim (reda veličine mikrosekundi) i sporim (reda veličine milisekundi) micelizacijskim procesom. Micelizacijska kinetika ovisi o molekulskom sastavu i molekulskoj masi kopolimera. Smanjenjem duljine hidrofilnog dijela, uz konstantnu duljinu hidrofobnog, kao i povećanjem duljine hidrofobnog dijela, pri konstantnoj duljini hidrofilnog, produljuje se vrijeme relaksacije. Porast molekulske mase kopolimera, pri konstantnom PEO/PPO

Tablica 5. Standardna slobodna energija (ΔG°), entalpija (ΔH°) i entropija (ΔS°) micelizacije različitih PEO-PPO-PEO kopolimera u 1%-tnoj vodenoj otopini pri kritičnoj micelizacijskoj temperaturi (7)

kopolimer	ΔH° (kJ/mol)	ΔG° (kJ/mol)	ΔS° (kJ/mol K)
L64	230	-24,5	0,835
P65	182	-25,3	0,671
F68	215	-28,8	0,756
P84	211	-25,2	0,784
P85	229	-25,5	0,842
F88	169	-28,5	0,638
P103	339	-24,8	1,244
P104	296	-25,4	1,092
P105	331	-25,6	1,212
F108	266	-28,4	0,975
P123	329	-24,9	1,223
F127	253	-27,5	0,944

sastavu, isto tako produljuje relaksacijsko vrijeme. Naime, relaksacijsko vrijeme izmjenne unimera između vodene i micelarne faze ovisi o ova tri parametra (29). U eksperimentima Hechta i Hoffmanna (30) proučavana je micelizacijska kinetika F127, F88 i P123. Određen je jedan relaksacijski proces u području milisekunda, a drugi je izostao zbog visoke polidisperznosti kopolimera. Pri konstantnoj temperaturi relaksacijsko se vrijeme smanjivalo s povećanjem ukupne koncentracije kopolimera, dok se pri konstantnoj koncentraciji kopolimera relaksacijsko vrijeme smanjivalo s povećanjem temperature.

5.1. Učinak kopolimernog sastava i molekulske mase na micelizaciju

Relativno manje hidrofobni kopolimeri, zbog visokog udjela PEO dijela i/ili niske molekulske mase, ne stvaraju micelle pri sobnoj temperaturi, već se počinju samoorganizirati pri višim temperaturama. Naime, voda postaje lošije otapalo pri višoj temperaturi za oba dijela, što omogućuje dehidraciju PPO dijela i stvaranje micela.

Za kopolimere konstantne molekulske mase PEO dijela i promjenjive molekulske mase PPO dijela, cmc vrijednosti (pri određenoj temperaturi sustava) smanjuju se s povećanjem broja PO jedinica, iz čega se zaključuje da kopolimeri s duljim hidrofobnim dijelom stvaraju micelle pri nižim koncentracijama. U istom slučaju povećanje temperature rezultira nižim cmc vrijednostima. Vrijednosti su kritične micelizacijske temperature (pri određenoj koncentraciji) također funkcija broja PO jedinica, tako da kopolimeri s duljim hidrofobnim dijelom stvaraju micelle pri nižim temperaturama. Karakteristične se vrijednosti (cmc i cmt) skupine kopolimera konstantne duljine hid-

rofobnog dijela i promjenjive duljine hidrofilnog dijela (npr. 30 PO jedinica: L64, P65, F68, F108; 40 PO jedinica: P84, P85, F88; i 60 PO jedinica: P104, P105, F108) malo povećavaju s povećanjem broja EO jedinica. Dakle, stvaranje je micela teže što je kopolimer hidrofilniji. Učinak je PEO dijela (u odnosu na PPO dio) manje izražen na cmc i cmt vrijednosti, jer je hidrofobni dio molekule primarni čimbenik micelizacijskog procesa. Vrijednosti cmc i cmt kopolimera s konstantnim PEO/PPO sastavom smanjuju se s povećanjem molekulske mase. Na cmt vrijednosti više utječe molekulska masa kopolimera s nižim PEO udjelom i pri nižoj koncentraciji kopolimera (1, 7).

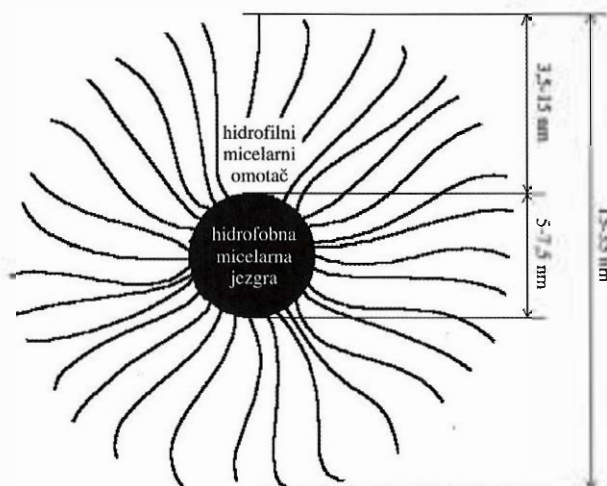
5.2. Učinak dodataka na micelizaciju

Proces nastajanja micela ovisi o prisutnosti raznih dodataka. Neki elektroliti (npr. NaCl, KCl, Na₂SO₄, Na₃PO₄) smanjuju cmc i cmt vrijednosti učinkom isoljavanja (*salting out*). Takav se učinak objašnjava utjecajem iona na promjenu strukture vode i hidratacijom PEO i PPO dijelova. Takvi elektroliti povećavaju uređenost vode i potiču dehidrataciju PPO dijela, što rezultira stvaranjem micela pri nižoj koncentraciji kopolimera i/ili temperaturi otopine. S druge strane tzv. »*salting in*« tvari (npr. NaSCN, KCNS, urea, kratkolančani alkoholi) pokazuju suprotan učinak, tj. pomiču cmc i cmt prema višim vrijednostima. Naime, takve tvari narušavaju uređenost molekula vode i tako umanjuju mogućnost dehidratacije te stvaranja micela. Učinak je uree na cmt jače izražen pri nižim koncentracijama kopolimera. Naročito je naglašen učinak zamijećen dodatkom ionskih površinski aktivnih tvari (posebno anionskih) otopini kopolimera. Tako natrijev laurilsulfat u niskim koncentracijama stvara miješane micide s kopolimerom, dok se u visokim koncentracijama micide sastoje gotovo isključivo od natrijevog laurilsulfata. U istraživanjima je micelizacije F127 s natrijevim laurilsulfatom pokazano međudjelovanje koje potpuno onemogućuje stvaranje F127 micela (1, 31, 32).

5.3. Struktura PEO-PPO-PEO micela

PEO-PPO-PEO micide obično se prikazuju kao sfere s hidrofobnom jezgrom (*core*) građenom od PPO dijelova kopolimera i hidrofilnim omotačem (*corona, shell*) kojeg čine PEO dijelovi kopolimerne molekule (slika 4). Takav je opis ispravan za većinu kopolimera s PEO udjelom većim od 30%, napose u relativno razrijeđenim otopinama i na sobnoj temperaturi. Broj je unimera koji grade jednu sferičnu micelu (agregacijski broj) između 15 i 70.

Osim sferičnih, u sustavu mogu nastati cilindrične i lamelarne micide, što ovisi o duljini hidrofilnog i hidrofobnog dijela (tj. PEO/PPO omjeru), koncentraciji kopolimera i temperaturi sustava (1, 2, 33). Nagarajan (34) je računski pokazao nastanak lamelarnih micela pri niskom PEO/PPO omjeru i sferičnih micela pri visokom PEO/PPO omjeru. Za kopolimere s PEO udjelom $\geq 40\%$ karakterističan je nastanak samo sferičnih micela pri temperaturi od 25°C. Pri PEO udjelu 30% moguć je nastanak cilindričnih micela, dok kopolimeri s PEO udjelom $\leq 20\%$ stvaraju samo lamelarne micide. Tablica 6 prikazuje izračunane vrijednosti dimenzija i oblika micela kao i usporedne eksperimentalne vrijednosti prikazane u zagradama (34).



Slika 4. Shematski prikaz sferične PEO-PPO-PEO triblok kopolimerne micelle (konstruirano prema lit. 33)

Učinak je temperature na veličinu micela zanimljiv. Općenito, povećanjem temperature raste agregacijski broj, dok dimenzije micela ostaju nepromijenjene. Međutim, ovakav je zaključak složen s obzirom na prilično širok cmt prijelaz i činjenicu da pros-

Tablica 6. Polumjer micelarne jezgre (R_c), debljina micelnog omotača (L), oblik i /ili agregacijski broj N za sferične micelle (34)

kopolimer	struktura	R_c (Å)	L (Å)	N	oblik
L62	EO ₆ PO ₃₅ EO ₆	7,5	19,2		L
L64	EO ₁₃ PO ₃₀ EO ₁₃	34,1 (38–46)	16,6 (37–44)	57 (39–70)	S
P65	EO ₁₉ PO ₂₉ EO ₁₉	30,7	22,1	43	S
F68	EO ₇₇ PO ₂₉ EO ₇₇	21,3 (25)	51,0 (53)	15 (22)	S
P84	EO ₁₉ PO ₄₃ EO ₁₉	42,2	22,5	75	S
P85	EO ₂₆ PO ₄₀ EO ₂₆	36,3 (37)	28,3 (36)	53 (57, 37–78)	S
F88	EO ₁₀₄ PO ₃₉ EO ₁₀₄	25,0	63,9	17	S
F98	EO ₁₁₈ PO ₄₅ EO ₁₁₈	26,7	70,3	18	S
P103	EO ₁₇ PO ₆₀ EO ₁₇	38,6	21,5		C
P104	EO ₂₇ PO ₆₁ EO ₂₇	51,0	29,8	94	S
P105	EO ₃₇ PO ₅₆ EO ₃₇	43,9	37,3	65	S
F108	EO ₁₃₃ PO ₅₉ EO ₁₃₃	28,3 (25,0)	76,6 (150)	20 (13)	S
P123	EO ₂₀ PO ₇₀ EO ₂₀	42,1	24,4		C
F127	EO ₁₀₀ PO ₆₄ EO ₁₀₀	37,5	70,2	35 (15–45, 30)	S

L (lamelarne micelle), S (sferične micelle), C (cilindrične micelle)

ječni hidrodinamički promjer, određen npr. fotonskom korelacijskom spektroskopijom, uključuje molekule vode u micelarnom omotaču. Tako se npr. u otopini L64 (6%) pri 25°C nalaze agregati čija veličina raste s porastom koncentracije (10 nm pri 8% – 12,5 nm pri 20%), a otopina pokazuje značajnu polidisperznost, što vjerojatno upućuje na višestruki proces agregacije. Isto je tako u otopini P85 pri koncentraciji ispod 10% i nižoj temperaturi (25°C) pronađeno istodobno postojanje unimera, micela i velikih micelarnih agregata. Dakle, u određenom je koncentracijskom i/ili temperaturnom području (iznad cmc i cmt) micelarna otopina polidisperzna, odnosno istodobno su prisutni unimeri (1,5–3,0 nm), micelle (8–13 nm) i veliki micelarni agregati (klasteri > 80 nm). Udjeli pojedinih vrsta jako ovise o koncentraciji i temperaturi. Nadalje, u širokom temperaturnom i/ili koncentracijskom području za monodisperznu micelarnu otopinu u sustavu su prisutne micelle u dinamičkoj ravnoteži s unimerima, ne mijenja se prosječni hidrodinamički promjer, a agregacijski se broj povećava s povećanjem temperature (npr. prosječni je hidrodinamički promjer za P85 konstantan u temperaturnom području od 15–50°C, a agregacijski se broj umjereno povećava od 20–40; agregacijski se broj F68 linearno povećava s temperaturom, dok prosječni hidrodinamički promjer ostaje konstantan). Takav se temperaturni učinak može objasniti dehidratacijom molekulsko otopljenih unimera i micelnog omotača s povećanjem temperature. Povećanjem se temperature unimeri nastoje odvojiti od vodene faze u micelarnu zbog dehidratacije, odnosno smanjenja topljivosti, što povećava agregacijski broj. Istodobno se dehidratizira i micelarni omotač, a hidratacija kojega pridonosi izmjerenoj vrijednosti prosječnog hidrodinamičkog promjera. Na taj je način moguće objasniti gotovo nepromijenjene vrijednosti prosječnog hidrodinamičkog promjera i povećanje agregacijskog broja s porastom temperature (1).

5.4. PEO-PPO-PEO micelle s uklopljenim lijekom

PEO-PPO-PEO micelle intenzivno se istražuju kao nosači različitih ljekovitih tvari, tj. kao novi (terapijski) sustavi za primjenu lijeka u organizmu. Kao posljedica strukture PEO-PPO-PEO micela (hidrofilni omotač, hidrofobna jezgra) moguće je uklapati lijekove različite lipofilnosti u micelarnim odjeljcima i/ili na njihovoj međupovršini (35). Najviše je istraživano uklapanje hidrofobnih lijekova u jezgru micelle. Uklapanjem se u micelle povećava topljivost slabo topljivih lijekova, usporava razgradnja (hidrolitička, metabolička) lijeka u obliku i/ili organizmu, postiže produljeno i/ili kontrolirano oslobađanje, poboljšava bioraspoloživost, odnosno farmakokinetička svojstva lijeka u organizmu (tablica 7).

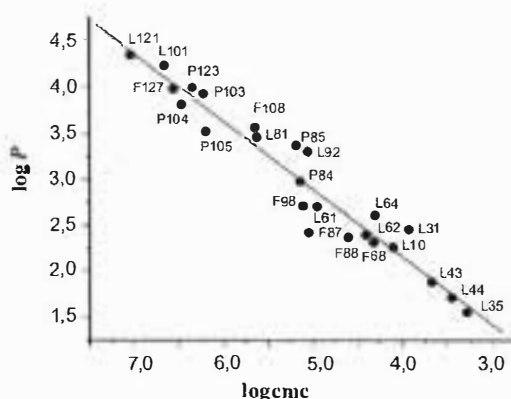
Povećanje vremena cirkulacije stabilizacijom sustava neće nužno poboljšati terapijski indeks lijeka. Jaka međudjelovanja lijeka i micela umanjuju oslobađanje lijeka, što rezultira manjom koncentracijom slobodnog lijeka u tijelu. Potrebno je postići ravnotežu između: (i) učinkovitog uklapanja lijeka u sustav čime se povećava stabilnost i vrijeme cirkulacije i (ii) učinkovitog oslobađanja lijeka iz sustava, po mogućnosti u cilnom području. Terapijski je indeks lijeka najviši kada je postignuta optimalna ravnoteža. Terapijska važnost PEO-PPO-PEO micela proizlazi iz mogućnosti prilagođa-

Tablica 7. Primjeri moguće uporabe PEO-PPO-PEO micela kao terapijskog sustava

lijek ili modelna tvar	kopolimer	cilj pripreve	literatura
diazepam	L64	povećanje topljivosti	36
nistatin	F68, F98, P105, F127	povećanje topljivosti	37
kamptotecin	F127-PAA,* L92-PAA*	povećanje topljivosti, sprječavanje hidrolize biološki aktivnog laktosnog prstena lijeka u <i>in vivo</i> uvjetima	38
doksorubicin	P105, P85	povećanje topljivosti, kontrolirano ciljano oslobađanje citostatika pomoću ultrazvuka, smanjenje međudjelovanja citostatika i zdravih stanica	39, 40, 41, 42
pilokarpin	F127	povećanje bioraspoloživosti lijeka u oku	43
hidrofobna tvar (sudán III)	smjesa L121/F127	povećanje solubilizacijskog kapaciteta i stabilnosti micela	44
plazmidna DNA	smjesa L61/F127	povećanje ekspresije gena nakon <i>i.m.</i> primjene (genska terapija)	2
P85-enterotoksin B** P85-inzulin**		moguća ciljana primjena lijeka uporabom micela s proteinskim (enterotoksin B, inzulin) ligandima za specifične receptore u organizmu	2

*Pluronic® triblok kopolimeri (F127, L92) kemijski modificirani poliakrilnom kiselinom (PAA)

** Pluronic® triblok kopolimer (P85) kemijski modificiran specifičnim proteinskim ligandima



Slika 5. Ovisnost koeficijenta razdiobe pirena ($\log P$) o cmc vrijednostima ($\log \text{cmc}$) različitih PEO-PPO-PEO kopolimera (13)

vanja fizičko-kemijskih svojstava izborom kopolimernog sastava i/ili uporabom smjese kopolimera radi postizanja maksimalnog terapijskog indeksa za određeni lijek. Slika 5 prikazuje ovisnost logaritamskih vrijednosti koeficijenta razdiobe pirena prema logaritamskim vrijednostima kritičnih micelizacijskih koncentracija PEO-PPO-PEO kopolimerima (2).

Kopolimeri u gornjem lijevom dijelu dijagrama imaju najniže cmc vrijednosti i najviše vrijednosti koeficijenta razdiobe, što je karakterizirano najvišom stabilnošću i najjačim zadržavanjem lijeka u sustavu. Suprotno tome, kopolimeri u donjem desnom dijelu dijagrama imaju najviše cmc vrijednosti, najniže vrijednosti koeficijenta razdiobe pa se lako disociraju i oslobađaju lijek pri razrjeđenju. Promjenom molekulskih parametara kopolimera u micelarnim sustavima mogu se postići željena svojstva stabilnosti i oslobađanja lijeka (13, 2).

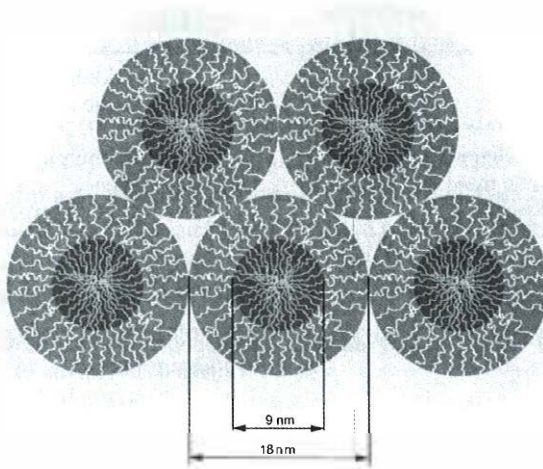
5.5. Biodistribucija PEO-PPO-PEO micela

U razmatranju biodistribucije PEO-PPO-PEO micela uspoređivani su kopolimeri različitog omjera hidrofilnih i hidrofobnih dijelova. Određena je površina ispod krivulje (AUC) za krv, jetru i slezenu, kao i tkivni koeficijent razdiobe ($P_{organ/tkv}$) za jetru i slezenu, koji se mijenjao sljedećim kopolimernim nizom: F68 < F108 < P85 < L61. Time se može zaključiti da se zadržavanje kopolimera u organima povećava s povećanjem duljine hidrofobnog dijela molekule ili kako se smanjuje HLB vrijednost (2). Eliminacija kopolimera nakon parenteralne i oralne primjene određena je kod štakora i pasa. Primarni je put eliminacije bubrezima, a samo malim dijelom preko žuči, premda je pretpostavljen metabolizam u jetri za hidrofobne predstavnike skupine (npr L81). Tako je F68 nađen u svim organima 24 sata nakon *i.v.* primjene kod pasa, dok dugotrajna primjena u organima nije zabilježena (10). U drugom je istraživanju biodistribucije P85 micela nađeno oko 17% primijenjene koncentracije kopolimera 19 sati nakon jednokratne parenteralne aplikacije. Isto su tako relativno visoke koncentracije kopolimera (0,001–0,01%) akumulirane u organima. Konačno, istraživanjima farmakokinetike i biodistribucije PEO-PPO-PEO kopolimera, potvrđene su prilično visoke koncentracije u krvi nekoliko sati nakon primjene. Koncentracije su u području cmc vrijednosti, što upućuje na postojanje micela u cirkulaciji (2).

Trenutno je slabo istražen učinak PEO-PPO-PEO kopolimera na farmakokinetiku i biodistribuciju lijeka u tijelu. Najviše je učinjeno u istraživanjima Alakhova i suradnika (45). Proučavana je farmakokinetika i tkivna razdioba doksorubicina iz miješanih L61 i F127 micela (SP1049C). Zaključeno je da kopolimeri imaju mali učinak na farmakokinetički profil lijeka u jetri, bubrezima, srcu i plućima, dok se istodobno vrijednosti površine ispod krivulje povećavaju 2,9 i 1,7 puta u mozgu zdravih i bolesnih miševa. Ta se činjenica objašnjava inhibicijom staničnih P-glikoproteina na krvno-moždanoj barijeri. Istim se mehanizmom tumači akumulacija doksorubicina u tumorskom tkivu (45). Temeljem takvog mehanizma može se povećati i oralna bioraspoloživost različitih lijekova (2).

6. PEO-PPO-PEO gelovi

Otopinama visokih koncentracija nekih PEO-PPO-PEO kopolimera (npr. ~ 20% F127) reverzibilno se povećava viskoznost pri sobnoj ili fiziološkim temperaturama u odnosu na niže temperature (~ 4 °C), što se opisuje *termoreverzibilnim geliranjem*. Fazni prijelaz micelarne otopine u gel važna je prednost PEO-PPO-PEO kopolimera u različitim praktičnim primjenama. Pretpostavljeno je nekoliko mehanizama takvog faznog prijelaza, a kao posljedica: (i) unutarnjih promjena micelarnih svojstava, (ii) entropijskih promjena koje uključuju lokalno uređenje molekula vode oko hidrofobnih dijelova kopolimernih molekula, (iii) nastanka trodimenzionalne uređene prostorne strukture ili mreže, (iv) gušćeg slaganja micela u kubičnu simetriju. Najčešće se strukturna cjelovitost gela objašnjava slaganjem kopolimernih micela u kristalnu mrežu, po čemu se razlikuje od gela nastalog fizičkim ili kemijskim umrežavanjem polimera (npr. polisaharida). Prijelaz iz otopine, koja se ponaša u skladu s Newtonovim sustavima, u polučvrsti gel nastupa kada volumni udio micela u sustavu dostigne kritičnu vrijednost za učinkovito slaganje u organiziraniji kubični sustav. Dinamičko se stanje jezgre micela neznatno mijenja pri geliranju, dok se PEO dijelovi omotača međusobno isprepliću kao posljedica micelarnih međudjelovanja pri stvaranju gela (slika 6).



Slika 6. Shematski prikaz strukture F127 gela; sferične micelle promjera 17-18 nm pravilnije uređene u gel fazu (16)

Termoreverzibilno ponašanje pretpostavljeno je konformacijskim promjenama, odnosno promjenama orijentacije postraničnih metilnih skupina PPO dijelova kopolimera. Promjene nastaju pri povećanju temperature vjerojatno zbog dehidratacije hidrofobne jezgre micela građene od PPO dijelova kopolimera. Temperatura prijelaza u gel (*gel transition temperature*) obrnuto je proporcionalna koncentraciji kopolimera, tj. temperatura se prijelaza smanjuje s povećavanjem koncentracije kopolimera. Koncentracija je kopolimera potrebna za postizanje temperature prijelaza u gel praktički jednaka za kopolimere jednake duljine PPO dijela i stalnog PPO/PEO omjera. Pri određenoj se temperaturi potreb-

na koncentracija kopolimera za stvaranje gela smanjuje s povećanjem molekulske mase kopolimera. Linearna je ovisnost nađena između logaritamskih vrijednosti molekulske mase i recipročne vrijednosti termodinamičke temperature kopolimera jednakog PPO/PEO omjera. Prisutnost dodataka (npr. NaCl, KCl, Na₂SO₄) smanjuje temperaturu prijelaza u gel, dok je suprotni učinak opažen za ureu, različite alkohole i natrijev laurilsulfat. Moguća uporaba F127 gelova u sustavima za kontroliranu primjenu lijeka razjašnjava učinak solubiliziranih tvari (npr. metil-, etil-, propil- i butil-estera *p*-hidroksibenzojeve kiseline) i polimera (npr. PEO) na temperaturu prijelaza u gel. Tako lipofilniji esteri *p*-hidroksibenzojeve kiseline više smanjuju temperaturu prijelaza u gel u odnosu na hidrofilnije, pri svim ispitivanim kopolimernim koncentracijama. Dodatak PEO polimera u sustav povećava temperaturu prijelaza u gel, što ovisi o duljini PEO lanca i upotrijebljenoj PEO koncentraciji (1, 14).

Tablica 8. Primjeri moguće uporabe PEO-PPOPEO termoreverzibilnih hidrogelova kao terapijskog sustava

lijek	kopolimer	način primjene	cilj pripreve	literatura
deslorelin	F127	<i>i.m.</i>	zaštita peptidnih lijekova od biodegradacije, produljeno oslobađanje	46
inzulin	F127	<i>s.c.</i>	zaštita peptidnih lijekova od biodegradacije	47
inzulin	F127/polinezasićene masne kiseline	<i>bukalna, rektalna</i>	zaštita peptidnih lijekova od biodegradacije, poboljšavanje apsorpcije	48, 49
vitamin B ₁₂	F127	<i>nazalna</i>	poboljšavanje sustavne apsorpcije	50
deksametazon	F127	<i>periokularna</i>	poboljšavanje prijenosa lijeka u stražnji dio oka, produljeno oslobađanje	51
vankomicin	F127	<i>otološka</i>	produljeno oslobađanje, povećanje terapijskog učinka, poboljšanje suradnje s bolesnikom	52
timolol	F127/metilceluloza	<i>okularna</i>	poboljšanje biorasploživosti	53
pilocarpin	F127/karbopol	<i>okularna</i>	poboljšanje biorasploživosti	54
fentanil	F68	<i>transdermalna</i>	produljeno oslobađanje	55

7. Toksikološki profil PEO-PPO-PEO kopolimera

Buduća uporaba PEO-PPO-PEO kopolimera potpuno će ovisiti o prepoznavanju moguće toksičnosti, kao i o kliničkim ispitivanjima sigurnosti primjene u farmaceutskim oblicima. Klinički su toksikološka svojstva najbolje ispitana za tri sustava: (i) RheothRx, oblik s F68 za moguću terapiju infarkta miokarda, (ii) F127 gelovi s postupnim oslobađanjem lijeka i (iii) smjesa L61 i F127 u antitumorskoj terapiji (56).

U prvom je primjeru (i) provedeni klinički pokus na dobrovoljcima pokazao dobru toleranciju u kumulativnoj dozi većoj od 2,2 g/kg tijekom 24-satne infuzije. Međutim, zbog renalne je toksičnosti sustav povučen iz treće faze kliničkog pokusa. Opažena toksičnost uzrokovana je više nečistoćama, nego samim kopolimerima (56).

U drugom su primjeru (ii) kronično primjenjivane otopine F127 visokih koncentracija (30%) intraperitonejskom injekcijom u miša (0,5 g/kg svaki treći dan, tijekom 300 dana). Opažene su povišene razine kolesterola i triglicerida u krvi te stvaranje aterosklerotskih lezija u aorti. Hiperlipidemija je također opažena pri jednokratnoj parenteralnoj primjeni visokih doza F127 (1,5 g/kg). Istraživanja na kunićima upućuju na ovisnost takvih nuspojava o primijenjenoj dozi, tj. prisutne su samo pri visokim dozama. Doze manje od 27,5 mg/kg ne uzrokuju hiperlipidemiju niti mijenjaju druge parametre krvi. Stoga je zaključeno da se niske doze F127 kopolimera mogu upotrebljavati u sustavima za primjenu lijeka bez neželjenih hiperlipidemijskih učinaka (56).

U trećem su primjeru (iii) provedene toksikološke studije u miješanom L61 (0,25%) i F127 (2%) sustavu *in vivo* primijenjenom na glodavcima (štakorima) i neglodavcima (psima). Istraživanjima je akutne toksičnosti određena toksična doza (1,0–1,3 g/kg), koja je preko 30 puta veća od planirane u kliničkim pokusima. U 14-dnevnom istraživanju subakutne toksičnosti na psima nisu primijećeni neželjeni učinci pri primjeni terapijske dnevne doze od 0,07 g/kg. Međutim, pri dozi od 0,45 g/kg uočeno je reverzibilno povećanje vrijednosti proteina, AST, ALT, bilirubina i glukoze, kao i povećanje jetre s jasnim staničnim promjenama (45, 56).

Toksikološki aspekti *in vivo* primjene PEO-PPO-PEO kopolimera od posebne su važnosti za oblikovanje nevirusnih vektora u genskoj terapiji. Mišićna toksičnost različitih tipova kopolimera ispitivana je morfološkim pregledom mišićnog tkiva i praćenjem razine kreatinin fosfokinaze. Zaključeno je da je toksičnost proporcionalna lipofilnosti kopolimera; lipofilniji kopolimer izaziva ozbiljnije lezije. Općenito, F88 i F127 smatraju se prikladnim za gel oblike u *in vivo* primjeni, dok su P105 i P123 toksičniji od drugih tvari već prihvaćenih za *in vivo* primjenu (npr. Cremophor EL). Koncentracije su ispitivanih sustava (25%) 1000 puta veće od koncentracija potrebnih u mogućim sustavima za primjenu lijeka (57). Potvrđene promjene izazvane pojedinim kopolimerima više su rezultat fizičkog učinka velikog apliciranog volumena, nego kemijskog učinaka. Nadalje, toksični učinci ovise o ispitivanim dozama, koje su značajno veće od doza potrebnih u humanoj terapiji (45). Budući da su najizraženije nuspojave povezane s kroničnom primjenom, trenutno se primjena PEO-PPO-PEO

kopolimera predlaže u jednokratnom ili ograničeno višekratnom doziranju. Takvo doziranje uključuje citostatsku terapiju, akutnu terapiju nekih oboljenja SŽS (traume mozga) ili određene virusne infekcije (56).

PEO-PPO-PEO triblock copolymers

by I. Pepić

S u m m a r y

PEO-PPO-PEO copolymers are symmetric nonionic amphiphilic triblock copolymers with poly (ethylene oxide), PEO, as the hydrophilic end blocks and poly (propylene oxide), PPO, as the hydrophobic middle block. PEO-PPO-PEO copolymers are commercially available in a range of molecular weights (PEO and PPO block length) and copolymer composition (PPO/PEO ratio). As a result, PEO-PPO-PEO copolymers have different physicochemical properties and find widespread industrial applications. The aim of this work was to focus on specialized pharmaceutical applications. PEO-PPO-PEO copolymers are found to be an efficient drug delivery system with multiple effects. The single molecular chain of copolymer, unimers, inhibit drug efflux transporters in both the blood-brain barrier and in the small intestine, which provides for the enhanced transport of select drugs to the brain and increases oral bioavailability. Furthermore, the interactions of the unimers with multidrug-resistant cancer cells results in sensitization of these cells with respect to various anticancer agent. Due to the amphiphilic nature of PEO-PPO-PEO copolymers they are able to self-aggregate to form variety of associated structures such as micelles and liquid crystalline phases. The micelles formed in aqueous solutions consist of a hydrophobic core of PPO and hydrophilic corona of PEO. The interesting feature of the block copolymer micelles is that they remain stable for longer time, even when the concentration is reduced below the critical micelle concentration (cmc). Another characteristic property of PEO-PPO-PEO block copolymer systems is the thermoreversible gelation displayed by some concentrated block copolymers at temperatures close to room temperature. Both the micellisation and gelation are affected by range of factors such as temperature, copolymer composition, molecular weight, concentration, and presence of cosolutes (surfactants, electrolytes, and hydrophobic substances). The incorporation of drugs into the micelles or gels can improve solubility, reduce hydrolytic/metabolic degradation, achieve sustained release, and result in improved bioavailability. The toxicity of PEO-PPO-PEO copolymers have been investigated for different pharmaceutical applications and found to be quite low. However, the toxicity of these copolymers is a complex issue and therefore; the toxicological aspects have to be considered from each formulation perspective.

(Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb)

Literatura – References

1. A. Alexandridis, T.A. Hatton, *Colloid. Surface. A* **96** (1995) 1.
2. A.V. Kabanov, E.V. Batrakova, V.Y. Alakhov, *J. Contr. Rel.* **82** (2002) 189.
3. *European Pharmacopoeia*, 4th ed, Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe (EDQM), Strasburg 2001, 1777.
4. *The United States Pharmacopoeia XXII*, The United States Pharmacopoeial Convention, Twinbrok, Parkway, Rockville 1990, 1960.
5. C.R. Raymond, P.J. Sheskey, P.J. Weller, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Ed, 4th ed., Pharmaceutical Press and American Pharmaceutical Association, London, Chicago 2003, 447.
6. K. Mortensen, *Colloid. Surface. A* **183–185** (2001) 277.
7. P. Alexandridis, J.F. Holzwarth, T.A. Hatton, *Macromolecules* **27** (1994) 2414.
8. R. Senjković, *Osnove oblikovanja lijekova*, Školska knjiga, Zagreb 1994, 18.
9. I. Jalšenjak, V. Jalšenjak, J. Filipović-Grčić, *Farmaceutika*, Školska knjiga, Zagreb 1998, 65.
10. S.M. Moghimi, A.C. Hunter, *Trends Biotechnol.* **18** (2000) 412.
11. J.E.F. Reynolds, *Martindale. The Extra Pharmacopoeia*, Ed., 31st ed., Royal Pharmaceutical Society, London 1996, 1344.
12. G. Pifferi, P. Santoro, M. Pedrani, *Il Farmaco* **54** (1999) 1.
13. M.Y. Kozlov, N.S. Melik-Nubarov, E.V. Batrakova, A.K. Kabanov, *Macromolecules* **33** (2000) 3305.
14. P. Alexandridis, *Curr. Opin. Colloid. In.* **2** (1997) 478.
15. G. Wanka, H. Hoffmann, W. Ulbricht, *Macromolecules* **27** (1994) 4145.
16. R.L. Rill, Y. Liu, D.H. Van Winkle, B.R. Locke, *J. Chromatogr. A* **817** (1998) 287.
17. R. Ivanova, B. Lindman, P. Alexandridis, *Adv. Colloid Interfac.* **89–90** (2001) 351.
18. P. Alexandridis, U. Olsson, B. Lindman, *Langmuir* **14** (1998) 2627.
19. P. Alexandridis, R.J. Spontak, *Curr. Opin. Colloid In.* **4** (1999) 130.
20. A.V. Kabanov, E.V. Batrakova, V.Y. Alakhov, *Adv. Drug Deliver. Rev.* **54** (2002) 759.
21. A.V. Kabanov, E.V. Batrakova, D.W. Miller, *Adv. Drug Deliver. Rev.* **55** (2003) 151.
22. E. Batrakova, S. Lee, S. Li, A. Venne, V. Alakhov, A. Kabanov, *Pharm. Res.* **16** (1999) 1373.
23. V. Alakhov, E. Klinski, S. Li, G. Pietrzynski, A. Venne, E. Batrakova, T. Bronitch, A. Kabanov, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 113.
24. A.H. Schinkel, J.W. Jonker, *Adv. Drug Deliver. Rev.* **55** (2003) 3.
25. E. Batrakova, S. Li, D.W. Miller, A.V. Kabanov, *Pharm. Res.* **16** (1999) 1366.
26. E. Batrakova, S. Li, D.W. Miller, V.Y. Alakhov, A.V. Kabanov, W.F. Elmquist, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **296** (2001) 551.
27. I. Astafieva, X.F. Zhong, A. Eisenberg, *Macromolecules* **26** (1993) 7339.
28. A.T. Florence, D. Attwood, *Physicochemical principles of pharmacy*, Ed., 2nd ed., The MacMillan press LTD, London 1994, 199.
29. G. Waton, B. Michels, R. Zana, *J. Colloid Interf. Sci.* **212** (1999) 593.
30. E. Hecht, H. Hoffmann, *Colloid. Surface. A* **96** (1995) 181.

31. N.J. Jam, V.K. Aswal, P.S. Goyal, P. Bahadur, *Colloid. Surface. A* **173** (2000) 85.
32. N. Pandit, T. Trygstad, S. Croy, M. Bahorquez, C. Koch, *J. Colloid Interf. Sci.* **222** (2000) 213.
33. A.V. Kabanov, I.R. Nazarova, I.V. Astafieva, E.V. Batrakova, V.Y. Alakhov, A.A. Yaroslavov, V.A. Kabanov, *Macromolecules* **28** (1995) 2303.
34. R. Nagarajan, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 55.
35. V.P. Torchilin, *J. Contr. Rel.* **73** (2001) 137.
36. K. Pandya, P. Bahadur, T.N. Nagar, A. Bahadur, *Colloid. Surface A* **70** (1993) 219.
37. S.R. Croy, G.S. Kwon, *J. Contr. Rel.* **95** (2004) 161.
38. R. Barreiro-Iglesias, L. Bromberg, M. Temchenko, T.A. Hatton, A. Concheiro, C. Alvarez-Lorenzo, *J. Contr. Rel.* **97** (2004) 537.
39. A. Marin, H. Sun, G.A. Hussein, W.G. Pitt, D.A. Christensen, N.Y. Rapoport, *J. Contr. Rel.* **84** (2002) 39.
40. N. Munshi, N. Rapoport, W.G. Pitt, *Cancer Lett.* **118** (1997) 13.
41. N. Rapoport, *Int. J. Pharm.* **277** (2004) 155.
42. E.V. Batrakova, S. Li, Y. Li, V.Y. Alakhov, W.F. Elmquist, A.V. Kabanov, *J. Contr. Rel.* **100** (2004) 389.
43. I. Pepić, N. Jalšenjak, I. Jalšenjak, *Int. J. Pharm.* **272** (2004) 57.
44. K.T. Oh, T.K. Bronich, A.V. Kabanov, *J. Contr. Rel.* **94** (2004) 411.
45. V. Alakhov, E. Klinski, S. Li, G. Pietrzynski, A. Venne, E. Batrakova, T. Bronitch, A. Kabanov, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 113.
46. J.G.W. Wenzel, K.S.S. Balaji, K. Koushik, C. Navarre, S.H. Duran, C.H. Rahe, U.B. Kompella, *J. Contr. Rel.* **85** (2002) 51.
47. J.M. Barichello, M. Morishita, K. Takayama, T. Nagai, *Int. J. Pharm.* **184** (1999) 189.
48. J.M. Barichello, M. Morishita, K. Takayama, Y. Chiba, S. Tokiwa, T. Nagai, *Int. J. Pharm.* **183** (1999) 125.
49. M. Morishita, J.M. Barichello, K. Takayama, Y. Chiba, S. Tokiwa, T. Nagai, *Int. J. Pharm.* **212** (2001) 289.
50. S.S. Pisal, A.R. Paradkar, K.R. Mahadik, S.S. Kadam, *Int. J. Pharm.* **270** (2004) 37.
51. S-B. Lee, D.H. Geroski, M.R. Prausnitz, H.F. Edelhauser, *Exp. Eye. Res.* **78** (2004) 599.
52. S.H. Lee, J.E. Lee, W.Y. Baek, J.O. Lim, *J. Contr. Rel.* **96** (2004) 1.
53. A.H. El-Kamel, *Int. J. Pharm.* **241** (2002) 47.
54. H-R. Lin, K.C. Sung, *J. Contr. Rel.* **69** (2000) 379.
55. J. Liaw, Y-C. Lin, *J. Contr. Rel.* **68** (2000) 273.
56. A.V. Kabanov, E.V. Batrakova, D.W. Miller, *Adv. Drug Deliver. Rev.* **55** (2003) 151.
57. A.V. Kabanov, P. Lemieux, S. Vinogradov, V. Alakhov, *Adv. Drug Deliver. Rev.* **54** (2002) 223.