

SYNTECKÉ BIODEGRADOVATELNÉ POLYMERY PRO PARENTERÁLNÍ APLIKACI LÉČIV

MARTINA HOLICKÁ, JAKUB VYSLOUŽIL,
KATEŘINA KUBOVÁ, JAN MUSELÍK a DAVID
VETCHÝ

Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého třída 1/1946, 612 42 Brno
vetchy@email.cz

Došlo 30.8.18, přepracováno 2.1.19, přijato 15.1.19.

Klíčová slova: biodegradovatelné polymery, degradace, mikročástice, implantáty

Obsah

1. Úvod
2. Biokompatibilita a biodegradabilita
3. Biodegradovatelné polymery
 - 3.1. Polyanhydridy
 - 3.2. Polyfosfoestery
 - 3.3. Polyfosfazen
 - 3.4. Polyurethany
 - 3.5. Poly(ester)amidy
 - 3.6. Biosyntetické bakteriální polyestery
4. Závěr

1. Úvod

Biodegradovatelné polymery jsou makromolekulární látky přírodního, syntetického nebo polosyntetického původu (biologicky odvozené), které se v organismu specificky degradují (rozkládají) na produkty normálního metabolismu nebo na produkty, jež mohou být z organismu kompletně eliminovány. Pak hovoříme o biodegradaci či biologickém rozkladu látek¹. Biodegradabilita se často vyžaduje u parenterálního podání léčivé látky, která se dostává přímo na místo působení, případně do systémového oběhu, bez možného degradačního působení gastrointestinálního traktu. Mezi moderní studované léčivé formy využívané především v parenterální aplikaci patří mikročástice a implantáty². Mikročástice jsou slibnými nosiči makromolekulárních látek, zejména peptidů. Našly uplatnění na trhu pod obchodními názvy jako např. Decapeptyl Depot[®], Sandostatín LAR[®] či Somatuline LA[®] (cit.^{3,4}). Léčivo je v nich enkapsulováno, čímž mu je poskytnuta ochrana před vnějšími vlivy a rovněž dochází k prodlouže-

ní jeho biologického poločasu⁵. Implantáty jsou lékopisně definované jako sterilní pevné přípravky velikosti a tvaru vhodných pro parenterální implantaci s dlouhodobým uvolňováním léčivé látky. Implantáty se zabudovaným léčivem jsou poměrně novými systémy, které zajistí dávku léčiva na místa jinými způsoby obtížně dosažitelnými. V případě implantátů na bázi biodegradovatelných polymerů dochází během uvolňování léčiva k jejich degradaci a nemusejí se tak následně z organismu odstraňovat².

Široce používaným syntetickým biodegradovatelným polymerem schváleným americkou Food and Drug Administration (FDA) k humánnímu použití pro řízené uvolňování z nanočástic, mikročástic a implantátů je kopolymer kyseliny mléčné a glykolové (PLGA)⁶, který byl již v Chemických listech podrobně zpracován⁷. Vzhledem k současnému velkému zájmu, využití, i nemalé ceny uvedených lékových forem jsou však hledány i další polymery použitelné pro jejich přípravu. Cílem tohoto příspěvku je představit ty biodegradovatelné polymery, které jsou v současnosti intenzivně zkoumány jako případné nosiče pro přípravu parenterálních lékových forem, zejména mikročástic a implantátů.

2. Biokompatibilita a biodegradabilita

Jak již z jejich názvu vyplývá, základní vlastností biodegradovatelných materiálů je biodegradabilita, čili biologická rozložitelnost v organismu. Biologicky rozložitelný polymer by měl být vyroben z hydrofilní molekuly, měl by být netoxický, bez přítomnosti endotoxinů, a netoxické by měly být i degradační produkty, přičemž čas degradace by měl odpovídat času potřebné regenerace tkáně nebo času požadované terapie^{8,9}. Biodegradace může probíhat s účastí enzymů nebo bez nich. Nejčastějším případem neenzymatické biodegradace je neenzymatická hydrolyza. Ta se vyjma velice hydrofobních polymerů odehrává v polymerech, které ve své struktuře obsahují hydrolyticky labilní chemické vazby^{10,11}. Při dostatečné saturaci vodou může probíhat v celém objemu polymeru. Na druhé straně degradace enzymatická probíhá za účasti enzymů, které však neprostupují do nitra polymeru a degradace tak probíhá povrchově¹¹. K vyhodnocení degradačních produktů se během první fáze rozkladu používá povrchové analýzy (infračervená spektroskopie, rentgenová fotoelektronová spektroskopie, měření stykového úhlu) a v dalších fázích pak analýzy objemové (změny relativní molekulové hmotnosti, teploty přechodů mechanických vlastností)¹². Řadou změn během degradace procházejí rovněž chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti polymerů¹³ a to především na povrchu polymeru, kde dochází k jeho zdrsnění a případně jiným změnám v důsledku hydrolyzy. Vodný

roztok postupně proniká do polymerní matrice, zvyšuje se absorpce vody, polymerní řetězec se štěpí, molekulová hmotnost polymeru se snižuje, až dojde ke ztrátě hmotnosti a pórovitosti matrice, ztrátě pevnosti v tahu a nakonec až k vymizení mechanických vlastností i krystalinity, neboli schopnosti dosáhnout určitého stupně uspořádanosti a vykazovat specifickou nadmolekulární strukturu.

Druhou zásadní vlastností biodegradovatelných polymerů je biokompatibilita, tedy absence negativní reakce při použití materiálu v organismu. Biokompatibilitu polymeru může ovlivňovat samotná chemická struktura materiálu, molekulová hmotnost, rozpustnost, hydrofilita/hydrofobita, chemie povrchu, míra schopnosti absorbovat vodu, mechanismus degradace či krystalinita⁸. Úroveň kompatibility degradačních produktů může být ve srovnání s výchozí polymerní maticí v průběhu času různá. Vzhledem k těmto složitostem a rozsahu aplikací používaných polymerních odbouratelných biomateriálů odpovídající specifickým a jedinečným požadavkům každé individuální a konkrétní medicínské aplikace se proto potřeba jejich vývoje stále prohlubuje¹⁴.

3. Biodegradovatelné polymery

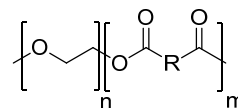
Následující podkapitoly zpracovávají využití jednotlivých tříd polymerů při přípravě lékových forem k parenterální aplikaci, případně jejich jiná biomedicínská využití. Pro větší přehlednost je souhrn polymerních tříd, lékových forem a inkorporovaných léčiv uveden v tab. I.

3.1. Polyanhydridy

Polyanhydridy (PA) jsou spolu s polyestery nejčastěji používanými polymery schválenými FDA ve farmaceutické výrobě¹⁵. V oblasti polymerů podléhajících povrchové erozi se považují za nejrozsáhleji studované biologicky odbouratelné látky. Byly speciálně navrženy pro vývoj

systémů přivádějících krátkodobě uvolňující se léčivo do mnoha orgánů lidského těla, zejména mozku, kostí, krevních cév a očí¹. Polyanhydridy tvoří hydrofobní řetězec s hydrolyticky citlivými anhydridovými vazbami, a proto lze jejich hydrolytickou degradaci snadno modifikovat složením polymeru. Především zabudování polyethylen-glykolových (PEG) segmentů do řetězce a následný vznik blokových polymerů (obr. 1) zvyšuje hydrofilitu polymeru¹⁶ a urychluje uvolňování léčiva. PA jsou vysoce biokompatibilní polymery rozkládající se na nemutagenní a netoxické degradační metabolity¹. To jsou jejich nesporné výhody. Problematická je však jejich stabilita, což se řeší skladováním v chladných a suchých podmínkách¹⁷.

Farmaceutický výzkum se zaměřil primárně na PA odvozené od kyseliny sebakové (SA) a 1,3-bis(*p*-karboxy-fenoxy)propanu (CPP). Jejich kopolymer je poly[1,3-bis-(*p*-karboxy-fenoxypropan)-*co*-(sebakový anhydrid)], P(CPP-SA)¹⁸. PA odvozené od SA byly pro své dlouhodobé účinky použity např. jako polymery při přípravě mikročástic s obsahem hormonu uvolňujícího gonadotropin. Enkapsulovaný hormon indukoval ovulaci u ryb už 6 týdnů před jejím přirozeným nástupem, přičemž se snižující se teplotou v okolí docházelo k žádoucímu zpomalení degradace polymeru, a tím i uvolňování hormonu¹⁹. Doba degradace souvisí také s konkrétním chemickým složením polymeru. Tak například alifatické PA podléhají rychlé degradaci v rámci několika dní, zatímco aromatické PA degradují během několika let²⁰.

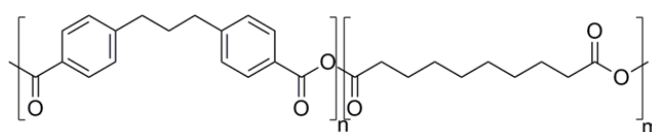


Obr. 1. Schematický vzorec kopolymerů anhydridu obecné dikyseliny a ethylenglykolu

Tabulka I

Přehled lékových forem připravených z vybraných tříd polymerů

Polymerní nosič	Léková forma	Zpracovaná účinná látka
Polyanhydrid	mikročástice	gonadotropin uvolňující hormon ¹⁹
	implantát	karmustin (Gliadel®) ²¹
Polyfosfoestery	mikročástice	paklitaxel (Paclimer®) ²²
Polyfosfazený	mikročástice	naproxen, sukcinylsulfathiazol, trimetoprim ²⁵
Polyurethany	mikročástice	doxorubicin ³¹ , paklitaxel ³² , gefitinib ³³
	implantát	dexamethason ^{35,39} , triamcinolon ³⁶ , 5-fluorouracil ³⁷ , tetracyklin ³⁸ , bevacizumab ⁴⁰
	pěna	doxorubicin ⁴¹ , DB-67 (silatecan) ⁴²
	sol-gel	inzulin ⁴⁶ , růstový hormon ⁴⁷ , gentamicin ⁴⁸
Poly(ester)amidy	nanočástice	rifampicin ⁵⁶
Polyhydroxyalkanoáty	mikročástice	lomustin ⁶⁰ , 5-fluorouracil ⁶¹
	implantát	metoklopramid ⁶² , hormon uvolňující luteinizační hormon ⁶³

Obr. 2. Poly[1,3-bis-(*p*-karboxyfenoxipropan)-*co*-(sebakový anhydrid)]

Do složené alifaticko-aromatické kopolymerní matrice z CPP a SA v molárním poměru 20/80 (obr. 2) byla v rámci implantátu s obchodním názvem Gliadel® (EISAI) začleněna účinná cytostatická látka karmustin. Přípravek patří bezesporu k neúspěšnější aplikaci PA ve farmacii a slouží k terapii maligního gliomu. Uvolňování karmustinu z implantátové destičky probíhá kombinací difuze léčivé látky a eroze polymerní matrice a rychlost je nezávislá na počáteční molekulové hmotnosti materiálu destičky²¹.

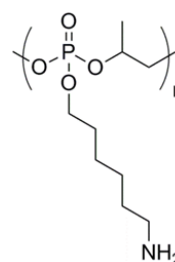
3.2. Polyfosfoestery

Tyto polymery obsahující fosfor byly vyvinuty v 70. letech 20. století¹. Pětivazebný atom fosforu, přítomný v jejich hlavním řetězci, jim umožňuje vytvořit chemickou vazbu s léčivem či proteinovou molekulou²². Vykazují výbornou biokompatibilitu, podobnost s biomakromolekulami jako jsou nukleové kyseliny a dobrou *in vivo* tkáňovou snášenlivost. Za fyziologických podmínek se polyfosfoestery (PPE) rozkládají vlivem hydrolytického a enzymatického štěpení fosfátových vazeb v řetězci. Konečnými produkty rozkladu jsou pak fosfát, alkohol a dioly¹. Hmotnost polymeru v průběhu času klesá kontinuálně, díky čemuž jsou unikátním materiálem pro biomedicínské a farmaceutické aplikace.

Nejznámější ve vodě nerozpustné formy PPE na bázi kopolymeru laktidu a ethylfosfátu (obr. 3) se využívají pro výrobu mikročásteček s řízeným uvolňováním chemoterapeutik, např. paklitaxelu. Přívod daného léčiva systémem Paclimer® (Guilford Pharmaceuticals Inc.) se během klinického zkoušení ukázal účinným v terapii rakoviny plic a vaječníků²². Obecně je degradace laktidových homopolymerů pomalá a postupná. Vzhledem k tomu, že počet fosfátových vazeb v kopolymeru klesá, pokles molekulové hmotnosti stále více závisí na degradaci laktidových vazeb. To vede k druhému, pomalejšímu stupni degradace, který je ovlivněn převážně hydrolyzou těchto vazeb.

Navázáním kationtových látek na postranní řetězec polyfosfoesterů vznikají ve vodě rozpustné kationtové

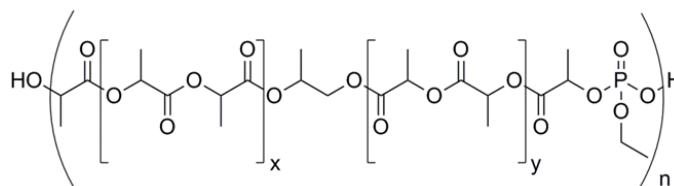
formy PPE, které představují nový materiál pro neviróvá vehikula k dodání DNA a genů do organismu. Elektrostatická interakce mezi kationtovým polymerem a záporně nabitými molekulami DNA vede k tvorbě komplexů nebo nanočástic, které ochraňují DNA a usnadňují její vychytávání buňkami organismu. Takový systém přívodu DNA pak může významně zlepšit její biologickou dostupnost jak do krevního řečiště, tak i do nitra buňky²². V rámci dalších oblastí použití PPE se v tkáňovém inženýrství uplatňují skeletové konstrukce napomáhající regeneraci tkáně²³. Např. pro injektabilní tkáňové konstrukce se využívá multifunkční biodegradovatelný hydrogelový zesíťovaný makromer, který má podél postranního řetězce ve vodě rozpustného poly(6-aminohexyl)propylen fosfátu (PPE-HA) (obr. 4) začleněné akrylátové skupiny, a označuje se (PPE-HA-ACRL)²⁴.



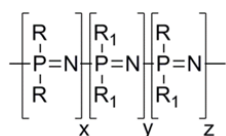
Obr. 4. Poly[(6-aminohexyl)propylen fosfát]

3.3. Polyfosfazeny

Tato třída polymerů je charakteristická alternující anorganickou sekvencí atomů fosforu a dusíku v hlavním řetězci, kde atom fosforu nese dva organické substituenty. Vhodnou volbou těchto substituentů lze získat různé fyzikálně-chemické vlastnosti polymeru²⁵. Například substituční reakcí atomů chloru poly(dichlorofosfazenu) s aminovou skupinou ethylesteru fenylalaninu a imidazolu (obr. 5)



Obr. 3. Kopolymer laktidu a ethylfosfátu



Obr. 5. Vybrané struktury polyorganofosfazenů (R = ethyl-(2*S*)-2-amino-3-fenylpropionát-*N*-yl, tj. *N*-substituovaný L-fenylalanin ethylester, R₁ = imidazol-1-yl)

v molárním poměru 80/20 byl připraven kopolymer, který byl následně použit pro přípravu mikročásteček s léčivou látkou naproxen, u kterých se předpokládalo lepší hojení kostního defektu a snadnější tvorbu kosti. Celé množství naproxenu se z tohoto polymeru uvolnilo přibližně po 33 dnech. Pokud byl substituentem pouze fenylalanin, vznikl polymer, který měl mnohem pomalejší degradaci a za výše uvedený čas stačil uvolnit pouze 40 % léčiva. V porovnání s biodegradovatelným polymerem přírodního původu, kolagenem, postrádají riziko imunogenicity, jejich příprava je mnohem snazší a rovněž vykazují vhodnou kinetiku uvolňování pro dosažení dostatečných lokálních koncentrací²⁵. Ukázalo se, že je vysoce biokompatibilní lokálně i systémově, s vhodnou rychlostí degradace. Polyfosfazenů tak mohou sloužit jako alternativa polyesterových derivátů²⁶. Zajímavost této skupiny však spočívá zejména v jejich adjuvantní biologické aktivitě zvyšující imunitní odezvu organismu. Formulace polyfosfazenů do mikročástečkové lékové formy tak může vést k nové generaci jednorázových vakcín, ve kterých působí nejen jako nosič, ale i jako imunostimulační látka, a spolu s antigenním vykazují prodloužené uvolňování²⁷.

3.4. Polyurethany

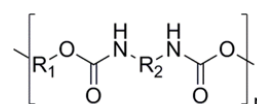
Polyurethany (PUR) jsou syntetické polymery v zásadě vyráběné z isokyanátů, diisokyanátů či triisokyanátů (alifatických nebo aromatických) a polyolů (nejčastěji diolů a triolů), mezi kterými dochází v hlavním řetězci ke vzniku urethanové (karbátové) vazby, která je podobná vazbě peptidové. Součástí struktury mohou být i dioly nebo diaminy prodlužující řetězec polymeru²⁸. Takto se tvoří stabilní polyurethany či polyetherurethany, které se staly základem vývoje biologicky rozložitelných polyurethanů. Zde však nemohly být použity běžné aromatické diisokyanáty, jako je např. 4,4'-methylendifenyl-diisokyanát (MDI) a isomery toluen diisokyanátu (TDI), ale musely být vytvořeny diisokyanáty netoxické, jakým je alifatická (2*S*)-2,6-diisokyanátohexanová kyselina (triviálním názvem lysin diisokyanát, LDI) či 1,4-diisokyanátobutan (BDI)¹. Degradovatelné polyesterurethany pak byly vyvinuty reakcí LDI s polyesterovými dioly/trioly odvozenými od D,L-laktidu nebo kaprolaktonu. V těchto biodegradovatelných polymerech tvoří alifatické polyester (kopolymery kyseliny mléčné (LA) a glykolové (GA), polykaprolakton) měkkou elastickou část, zatímco řetězce s peptidovou vazbou část tvrdou^{1,29} (obr. 6).

Při degradaci polyesterurethanů se uplatňuje především hydrolytický mechanismus štěpení esterových vazeb polyesterových triolů vedoucí ke vzniku α -hydroxykyselin (LA a GA), které samy o sobě katalyzují průběh hydrolyzy. Degradace je zrychlena hydrolyticky působícími enzymy, především lipasami, cholesterol esterasami a karboxyl esterasami a oxidací zprostředkovanou interakcí s buňkami zánětu³⁰.

Mezi příklady využití PUR při přípravě mikročásteček patří např. originální práce Niu a spol.³¹. Za účelem protinádorové léčby byl do PUR mikročásteček enkapsulován doxorubicin spolu s hydrogenuhličitarem sodným, čímž byl vytvořen pH-senzitivní systém. Podobně jako u zánětu je v oblasti rakovinné buňky kyselější pH, a proto vodíkové kationty prostředí reagují s hydrogenuhličitarem za vzniku CO₂. Následná tvorba pórů uvnitř polyurethanové vrstvy způsobí, že se léčivo okamžitě a ve velkém množství uvolní a dosáhne dostatečně účinné intracelulární koncentrace tak, aby vykazovalo vysokou toxicitu vůči různým nádorovým buňkám³¹. V jiné studii byl do polyurethanových mikročásteček inkorporován paklitaxel, přírodní alkaloid s antiproliferativním účinkem. Při přípravě PUR byl do struktury polymeru navíc zapracován peptidický RGD motiv (tripeptid arginin-glycin-aspartát), který umožňuje vazbu na buněčný povrch, což mikročástečkám propůjčuje potenciaální možnost zacílení svého působení³².

PUR polymery mohou sloužit rovněž jako sekundární nosiče pro mikročástečky na bázi jiných polymerů, zejména PLGA. Příkladem mohou být PLGA mikročástečky s obsahem gefitinibu, které byly nanášeny pomocí *in situ* se tvořícího fibrinového gelu mezi dvě vrstvy polyurethanové sítě na povrchu stentu. Tloušťkou vrstev PUR bylo možné ovlivnit rychlost uvolňování léčivé látky přesně v místě nádoru a posílit tak protinádorový efekt. Míra uvolňování léčiva se snižovala se zvyšující se tloušťkou vrchní vrstvy, a tedy i nižší prostupností pro vodu³³. Na podobném principu lze ke tvorbě polymerových sítí jako nosičů léčiv využít i polyesterurethany. Takto byly připraveny polymerové sítě s obsahem dexamethasonu a kyseliny acetylsalicylové³⁴.

Intenzivně zkoumanou lékovou formou z PUR jsou implantáty. Z polyurethanových polymerů byly např. vyvinuty podkožní implantáty s obsahem kortikosteroidu dexamethasonu, které byly úspěšně otestovány k modulaci některých složek zánětu, angiogeneze a fibrózy na myším modelu³⁵. Z dalších kortikosteroidů byl do PUR implantátů zapracován triamcinolon, přičemž tento systém vykazoval jednoznačnou schopnost minimalizovat nebo dokonce potlačovat klíčové komponenty neovaskularizace, zánětu



Obr. 6. Obecný vzorec polyurethanu (R₁, R₂ = alifatický nebo aromatický zbytek, přičemž R₁ pochází z diolu a R₂ z isokyanátu)

a fibrózy u myši po dobu minimálně 7 dnů (cit.³⁶). Ne vždy je léčivo v polymeru rozptýleno až při přípravě léčivé formy. V experimentu Sobczaka a spol.³⁷ bylo cytostatikum 5-fluorouracil přímo konjugováno s různými lineárními PUR řetězci. Rychlost uvolňování léčiva pak závisela na složení PUR řetězce. PUR na bázi polymléčné kyseliny vykazoval rychlejší uvolňování v porovnání s polykaprolaktonem³⁷. Implantáty z jiných materiálů trpících nižší bakteriální stabilitou je možné potáhnout filmy z poly(ether-ester)urethanů, které takto mohou sloužit jako nosiče léčiv pro antibakteriální účinek. Za tímto účelem byly navrženy např. filmy s obsahem tetracyklinu, které uvolňovaly léčivo po dobu delší než 200 hodin (cit.³⁸).

Zvláštní skupinu implantátů tvoří implantáty pro oční podání. Filmové intraokulární implantáty na bázi PUR s obsahem dexamethasonu byly úspěšně testovány na potkaním modelu k léčbě zánětů žilnatky vyvolaných endotoxiny. Z těchto filmů se dexamethason uvolňoval po dobu delší než 40 dní. Součástí experimentu byla i úspěšná demonstrace intraokulárního podání do lidského oka *post mortem*³⁹. Dalším testovaným implantátem byl PUR podspojivkový implantát s obsahem bevacizumabu, monoklonální protilátkou proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru (VEGF). VEGF je jedním z faktorů přispívajících ke zjizvení tkáně po operacích glaukomu. Filmy uvolnily pouze 10 % léčiva, a to během prvního dne, přesto dokázaly snížit počet VEGF exprimujících fibroblastů⁴⁰.

Mezi další léčivé formy pro parenterální podání na bázi polymerů lze řadit pěny a gely. Příkladem může být PUR pěna na bázi LDI a glycerolu, která byla využita k inkorporaci cytostatik doxorubicinu⁴¹ a DB-67 (silatecan, kamptothecinový analog)⁴². K podstatnému zvýšení hydrolytické degradace PUR došlo přidáním kopolymeru poly(ϵ -kaprolaktonu-*co*-butyrolaktonu) snižující krystalinitu měkké části polymerní matricové sítě. Čím větší je zastoupení butyrolaktonu na úkor polykaprolaktonu, tím větší je zastoupení hydrolytické degradace⁴³. Použití cyklotrimeru 1,6-hexamethylendiisokyanátu a polyesterového polyolu (složeného z ϵ -kaprolaktonu, glykolidu a D,L-polymléčné kyseliny) za přídavku tobramycinu vedlo ke vzniku polyurethanové sítě s prodlouženým uvolňováním tohoto léčiva po dobu dvou týdnů⁴⁴.

K parenterální aplikaci lze využít také polyurethanové hydrogelové systémy. S rostoucí teplotou a pH prochází vodné médium s přítomnými kopolymery tzv. fázovým přechodem sol-gel. Hydrogel se formuje v místě subkutánní aplikace a za fyziologických podmínek (37 °C, pH 7,4) získává povahu gelu. Kromě biokompatibility, biodegrada-

bility a řízeného uvolňování nabízí také jednoduchou aplikaci a nastavení dávky. Jako modelový protein byl použit např. inzulín, jehož uvolňování provázené rozkladem kopolymeru, bylo zaznamenáno v závislosti na koncentraci slabě redukčního činidla glutathionu⁴⁵, které umožnilo rychlejší rozpad hydrogelu. Inzulín se v závislosti na podtypu PUR polymeru uvolňoval 5–8 dní (cit.⁴⁶). Z dalších léčiv byl do polyurethanových hydrogelů úspěšně inkorporován např. lidský růstový hormon⁴⁷ nebo gentamicin⁴⁸.

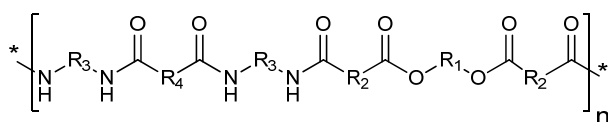
Injektabilní polyurethanové hydrogelové systémy na bázi LDI mohou být použity i pro ortopedickou aplikaci, např. systém PolyNova® (Polynova Industries). Gel vznikající při teplotě těla vykazuje potřebnou pevnost a lepší mechanické vlastnosti v porovnání s běžně používanými kostními výplněmi. Navíc prokazatelně podporuje adhezi a proliferaci buněk chrupavčité i kostní tkáně a tento efekt jde ještě zvýšit inkorporací aktivní složky^{49,50}. Za podobným účelem je možné také použít polyesterurethanovou pěnu, např. DegraPol® (AB Medica), která umí zaujmout histologickou strukturu podobnou přirozeným tkáním⁵¹. Skládá se ze dvou bloků spojených urethanovou vazbou, a to z polyhydroxybutyrát-diolu (tvrdá část) a polykaprolaktonu-diglykol-diolu (měkká část), jejichž kombinací a různými poměry lze ovlivňovat mechanické vlastnosti a čas degradace konečného produktu⁵².

V neposlední řadě slouží PUR díky své vynikající biokompatibilitě a dobrým mechanickým vlastnostem pro výrobu dlouhodobě působících implantátů, jako jsou srdeční pacemakery a cévní štěpy¹.

3.5. Poly(ester)amidy

Polyamidy jsou polymery, jejichž hlavní řetězec tvoří amidová vazba. Vznikají kondenzační reakcí diaminů s dikarboxylovými kyselinami nebo chloridy těchto kyselin. Pokud se namísto diových kyselin použijí polyester zakončené karboxylovou skupinou, připravené v přebytku diových kyselin, vzniká poly(ester)amid složený z esterových bloků spojených amidovými vazbami (obr. 7). Díky silným vodíkovým můstkům amidových vazeb a biologické rozložitelnosti esterových částí mají tyto kopolymery velmi dobrou mechanickou odolnost a teplotní stabilitu při zachování vysoké míry biodegradace v porovnání s odpovídajícími polyesterem⁵³.

Kopolymer vzniklý kombinací ϵ -kaprolaktonu a poly(ester)amidu (PEA) na bázi aminokyseliny fenylalaninu vykazuje výborné biologické vlastnosti. Tlumí zánětlivou reakci v místě aplikace a podporuje růst buněk. Navíc takto vzniklé hybridní kombinace aminokyselinového



Obr. 7. Obecný vzorec poly(ester)amidu

PEA (AMK-PEA) a polyesteru mohou poskytovat dva různé způsoby degradace současně – objemovou hydrolytickou degradaci polyesteru i enzymatickou povrchovou erozi AMK-PEA (cit.⁵⁴).

Velký potenciál v biomedicínských oborech spočívá hlavně v jejich použití jako šicího materiálu, systémů cíleného přívodu léčiva do organismu nebo nosiče proléčiva. Jeden z mnoha příkladů, kdy se PEA uplatňují jako nosič proléčiva, je kovalentní spojení koncových karboxylových skupin poly(jablečné kyseliny) jako esterové jednotky v hlavním řetězci s protirakovinným léčivem adriamycinem. Esterové vazby se pak v organismu hydrolyticky štěpí a léčivo se uvolňuje⁵⁵.

Pro cílený přívod malých hydrofobních léčiv nebo peptidů do místa účinku byla vyvinuta poly(ester)amidová směs založená na přítomnosti leucinu nebo fenylalaninu Cameo® (CAMEO Chemicals)¹.

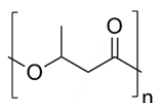
Pro terapii tuberkulózy byly z poly(ester)amidu připraveny nanočástice s obsahem rifampicinu. Úspěšně byla prokázána fagocytóza linií alveolárních makrofágů a nižší toxicita lékové nanoformy ve srovnání s léčivem bez nosiče. Dále bylo také prokázáno, že samotný poly(ester)amid nevykazoval na buněčné linie negativní vliv⁵⁶.

3.6. Biosyntetické bakteriální polyestery

Bakteriální polyestery, tj. látky s chemickou strukturou polyhydroxyalkanoátů (PHA), se dostaly do popředí zájmu v polovině 70. let 20. století, kdy byla zjištěna jejich biokompatibilita a biodegradabilita⁵⁷. PHA jsou často biosynteticky produkovány kmeny bakterií z přírodních surovin, případně syntetizovány ze zásobních intracelulárních uhlíkatých a energetických zdrojů⁵⁸. Relativně nový způsob výroby těchto biodegradovatelných materiálů má mnoho výhod, především absenci chemických katalyzátorů nebo iniciátorů reakce při vlastní biosyntéze, které mohou být pro organismus toxické⁵⁹. V medicínských a farmaceutických aplikacích má skupina PHA do budoucna velký potenciál. Uplatnění nacházejí ve vývoji mikro a nanočásticových systémů určených k přívodu protirakovinných léčiv do organismu, jako ochranný materiál během tkáňové regenerace nebo jako materiál k chirurgickému šití⁵⁷.

Poly(3-hydroxybutyrát) a jeho kopolyester

Poly(3-hydroxybutyrát) (PHB) (obr. 8) byl objeven francouzským vědcem Lemoignem v roce 1926 v bakterii *Bacillus megaterium*. Tato bakterie intracelulárně shromažďuje homopolymer složený z jednotek 3-hydroxymáselné kyseliny, které jsou spojeny esterovou vazbou mezi hydroxylovou skupinou a karboxylovou skupinou druhého monomeru. Od té doby bylo objeveno více než



Obr. 8. Poly(3-hydroxybutyrát)

90 různých rodů Archaea (prokaryotické organismy odlišné od klasických bakterií) i eubakterií (G^+ i G^-) schopných biosyntézy PHA (cit.⁵⁷).

Poly(3-hydroxybutyrát) patří společně se svým kopolyesterem poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerátem), zkráceně P(3HB-co-3HV), k nejvíce prostudovaným polymerům ve skupině PHA. Jak PHB, tak i jeho kopolyester jsou rozpustné v celé škále rozpouštědel, což jim umožňuje zpracování do mnoha různých tvarů a forem pro biomedicínské aplikace, kupř. filmů, vláken i částic. Jejich nedostatkem je křehkost, tepelná nestabilita⁵⁸ a v závislosti na celkovém podílu HV jednotek i nižší teplota tání⁵⁹.

Oba polymery jsou natolik hydrofobní, že podstupují pomalou erozi povrchovou degradací kinetikou nultého řádu a to je předurčuje k výrobě implantátů s dlouhodobým uvolňováním léčiva. Hydrolytická degradace PHB vede k tvorbě 3-hydroxymáselné kyseliny, která je běžnou složkou krve¹.

PHB lze uplatnit např. jako nosič při přípravě mikročásticových lékových forem pro cílený transport protinádorových léčiv. Bissery a spol.⁶⁰ do PHB mikročástic zapracovali lomustin, který se 7 dní po intravenózní aplikaci akumuloval v plicích, játrech a slezině. Takto připravená léková forma prokázala pozitivní efekt na léčbu Lewisova plicního karcinomu u myši. Kawaguchi a spol.⁶¹ ve svém experimentu zjistili, že esterifikace 5-fluorouracilu alifatickými kyselinami (propionová, butanová, pentanová) výrazně zlepšila jejich uvolňování z PHB mikročástic. Rychlost uvolňování léčiva závisela na lipofilitě proléčiva a molekulové hmotnosti polymeru, přičemž platilo, že čím menší molekulová hmotnost byla, tím bylo uvolňování rychlejší⁶¹.

Další možností farmaceutického využití je zapracování do lékových forem typu implantátů. K profylaktické terapii toxikóz u skotu způsobených rodem trav *Festuca* byl použit subkutánní implantát dlouhodobě uvolňující metoklopramid⁶². Pro kontinuální uvolňování nízkých hladin LHRH (hormon uvolňující luteinizační hormon) ke stimulaci sekrece LH a indukce ovulace acyklických ovcí byly použity implantáty LHRH uvolňující léčivo během 2–4 dní s 94% účinností, která pravděpodobně podnítl další výzkumy. Implantáty totiž vykázaly mnohem lepší efekt než standartní depotní injekce⁶³. K léčbě peridontálního onemocnění se u pacientů s gingivitidou ukázala účinná disperze tetracyklinu s prokazatelnějším efektem než disperze metronidazolová (během celé doby studie docházelo k produkci antibiotika ve slinách)⁶⁴.

V tkáňovém inženýrství je předmětem výzkumu také roubování PHB polymeru nanostrukturami zlata. Takto upravené nosiče by mohly najít uplatnění při pěstování buněk např. po těžkých popáleninách. Ve studii Žákové a spol. bylo mimo jiné zjištěno, že v porovnání s neupraveným PHB došlo po roubování nanostrukturami ke zvýšení počtu nakultivovaných buněk⁶⁵.

Kopolyester P(3HB-co-3HV) vykazuje piezoelectricitu, což z něj dělá ideálního kandidáta v ortopedických aplikacích při elektrické stimulaci podporující hojení kostní tkáně⁵⁹. Tyto elektricky vodivé polymery zlepšují také

adhezi a proliferaci buněk neurální a kardiovaskulární tkáně. Podmínka účinnosti a plného využití jejich terapeutického potenciálu spočívá v hvězdicovitém tvaru krystalů⁶⁶.

4. Závěr

Z výše uvedených informací vyplývá, že farmaceutická technologie má dnes pro formulaci pevných parenterálních lékových forem k dispozici celou řadu syntetických biodegradovatelných polymerů, které jsou schopny uvolňovat léčivo v řádech týdnů, a nemusí tak nutně spoléhat pouze na kopolymer kyseliny mléčné a glykolové. Při přípravě těchto polymerů je navíc možné použitím různých monomerů dobu uvolňování významně ovlivnit, což jim propůjčuje určitou flexibilitu využití. Některé konkrétní preparáty, jako např. Gliadel® nebo Paclimer®, se již dokonce objevují na trhu. Část uvedených polymerů je dále použitelná také v jiných biomedicínských aplikacích, např. v ortopedii. Mohou tak v budoucnu plnit při jedné aplikaci i více funkcí najednou – např. jako nosiče léčiva a zároveň jako opory růstu nových buněk.

Práce vznikla za podpory projektu Ministerstva zemědělství ČR č. QK1810221.

Seznam zkratk

AMK-PEA	aminokyselinový poly(ester)amid
BDI	1,4-diisokyanátobutan
CPP	1,3-bis(<i>p</i> -karboxyfenoxi)propan
FDA	food and drug administration
GA	kyselina glykolová
LA	kyselina mléčná
LDI	lysin diisokyanát
MDI	4,4'-methylendifenylisokyanát
P(3HB- <i>co</i> -3HV)	poly(3-hydroxybutyrát- <i>co</i> -3-hydroxyvalerát)
PA	polyanhydridy
PEA	poly(ester)amidy
PEG	polyethylenglykol
P(CPP-SA)	poly(1,3-bis-(<i>p</i> -karboxyfenoxi-propan)- <i>co</i> -(sebakový anhydrid)
PHA	polyhydroxyalkanoáty
PHB	polyhydroxybutyrát
PLGA	kopolymer kyseliny mléčné a glykolové
PPE	polyfosfoestery
PPE-HA	poly(6-aminohexyl)propylen fosfát
PPE-HA-ACRL	akryláty zesíťovaný poly(6-amino-hexyl)propylen fosfát
PUR	polyurethany
RGD	motiv tripeptid arginin-glycin-aspartát
SA	sebakový anhydrid
TDI	toluen diisokyanát

LITERATURA

- Nair L. S., Laurencin C. T.: *Prog. Polym. Sci.* 32, 762 (2007).
- Dvořáčková K., Masteiková R., Chalupová Z., Bernatonié J.: *Remedia* 18, 252 (2008).
- <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm>, staženo 24. 4. 2018.
- <http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>, staženo 24. 4. 2018.
- Putney S. D., Burke P. A.: *Nat. Biotechnol.* 16, 153 (1998).
- Klose D., Siepmann F., Willart J. F., Descamps M., Siepmann J.: *Int. J. Pharm.* 383, 123 (2010).
- Šnejdrová E., Dittrich M.: *Chem. Listy* 105, 27 (2011).
- Lendlein A., Sisson A. (ed.): *Handbook of Biodegradable Polymers: Isolation, Synthesis, Characterization and Applications*. J. Wiley, Hoboken 2011.
- Godwin A., Bolina K., Clochard M., Dinand E., Rankin S., Simic S., Brocchini S.: *J. Pharm. Pharmacol.* 53, 1175 (2001).
- Li S.: *J. Biomed. Mater. Res.* 48, 342 (1999).
- Zee M. Van D.: *Handbook of Biodegradable Polymers*. Rapra Technology, Shrewsbury 2005.
- Azevedo H. S., Reis R. L.: *Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. CRC Press, Boca Raton 2005.
- Lloyd A. W.: *Med. Device Technol.* 13, 18 (2002).
- Vert M.: *Biomacromolecules* 6, 538 (2005).
- Sun L., Zhou S., Wang W., Su Q., Li X., Weng J.: *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 20, 2035 (2009).
- Jiang H. L., Zhu K. J.: *Polym. Int.* 48, 47 (1999).
- Kumar N., Langer R. S., Domb A. J.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 54, 889 (2002).
- Dang W., Daviau T., Ying P., Zhao Y., Nowotnik D., Clow C. S., Tyler B., Brem H.: *J. Controlled Release* 42, 83 (1996).
- Mylonas C. C., Tabata Y., Langer R., Zohar. Y.: *J. Controlled Release* 35, 23 (1995).
- Jain J. P., Modi S., Domb A. J., Kumar N.: *J. Controlled Release* 103, 541 (2005).
- Dang W., Daviau T., Ying P., Zhao Y., Nowotnik D., Clow C. S., Tyler B., Brem H.: *Pharm. Res.* 13, 683 (1996).
- Zhao Z., Wang J., Mao H.-Q.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 55, 483 (2003).
- Ma P. X.: *Mater. Today* 7, 30 (2004).
- Li Q., Wang J., Shahani S., Sun D. D. N., Sharma B., Eliseeff J. H., Leong K. W.: *Biomaterials* 27, 1027 (2006).
- Veronese F. M., Marsilio F., Lora S., Caliceti P., Passi P., Orsolini P.: *Biomaterials* 20, 91 (1999).
- Caliceti P., Veronese F. M., Lora S.: *Int. J. Pharm.* 211, 57 (2000).
- Andrianov A. K., Chen J.: *J. Appl. Polym. Sci.* 101, 414 (2006).

28. Cheng J. Y., Hou T. Y., Shih M. F., Talsma H., Hennink W. E.: *Int. J. Pharm.* **450**, 145 (2013).
29. Zhang J. Y., Beckman E. J., Piesco N. P., Agarwal S.: *Biomaterials* **21**, 1247 (2000).
30. Hafeman A. E., Zienkiewicz K. J., Zachman A. L., Sung H.-J., Nanney L. B., Davidson J. M., Guelcher S. A.: *Biomaterials* **32**, 419 (2011).
31. Niu Y., Stadler F. J., Song J., Chen S., Chen S.: *Colloids Surf., B* **153**, 160 (2017).
32. Sartori S., Caporale A., Rechichi A., Cufari D., Cristallini C., Barbani N., Giusti P., Ciardelli G.: *J. Pept. Sci.* **19**, 205 (2013).
33. Chen W., Clauser J., Thiebes A. L., McGrath D. J., Kelly N., Van Steenberg M. J., Jockenhoevel S., Steinseifer U., McHugh P. E., Hennink W. E., Kok R. J.: *Eur. J. Pharm. Sci.* **103**, 94 (2017).
34. Feng Y., Zhang S., Wang H., Zhao H., Lu J., Guo J., Behl M., Lendlein A.: *J. Controlled Release* **152**, e1 (2011).
35. Moura S. A. L., Lima L. D. C., Andrade S. P., Junior A. Da S.-C., Órefice R. L., Ayres E., Da Silva G. R.: *J. Pharm. Sci.* **100**, 2886 (2011).
36. Pinto F. C. H., Silva-Cunha A. J., Oréface R. L., Ayres E., Andrade S. P., Lima L. D. C., Moura S. A. L., Da Silva G. R.: *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **23**, 1431 (2012).
37. Sobczak M., Hajdaniak M., Goś P., Olędzka E., Kołodziejwski W. L.: *Eur. J. Med. Chem.* **46**, 914 (2011).
38. Feng X., Wang G., Neumann K., Yao W., Ding L., Li S., Sheng Y., Jiang Y., Bradley M., Zhang R.: *Mater. Sci. Eng., C* **74**, 270 (2017).
39. Saliba J. B., Vieira L., Fernandes-Cunha G. M., Da Silva G. R., Fialho S. L., Silva-Cunha A., Bousquet E., Naud M.-C., Ayres E., Oréface R. L., Tekaya M., Kowalczyk L., Zhao M., Behar-Cohen F.: *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* **57**, 1671 (2016).
40. Paula J. S., Ribeiro V. R. C., Chahud F., Cannellini R., Monteiro T. C., Gomes L. E. C., Reinach P. S., Rodrigues M. de L. V., Silva-Cunha A.: *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **29**, 566 (2013).
41. Sivak W. N., Pollack I. F., Petoud S., Zamboni W. C., Zhang J., Beckman E. J.: *Acta Biomater.* **4**, 1263 (2008).
42. Sivak W. N., Zhang J., Petoud S., Beckmann E. J.: *Acta Biomater.* **5**, 2398 (2009).
43. Hong J. H., Jeon H. J., Yoo J. H., Yu W.-R., Youk J. H.: *Polym. Degrad. Stab.* **92**, 1186 (2007).
44. Hafeman A. E., Zienkiewicz K. J., Carney E., Litzner B., Stratton C., Wenke J. C., Guelcher S. A.: *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* **21**, 95 (2010).
45. Kandár R.: *Chem. Listy* **110**, 754 (2016).
46. Li X., Wang Y., Chen J., Wang Y., Ma J., Wu G.: *ACS Appl. Mater. Interfaces* **6**, 3640 (2014).
47. Phan V. H. G., Thambi T., Duong H. T. T., Lee D. S.: *Sci. Rep.* **6**, 29978 (2016).
48. Chen Y., Wang R., Wang Y., Zhao W., Sun S., Zhao C.: *Int. J. Biol. Macromol.* **98**, 1 (2017).
49. Bonzani I. C., Adhikari R., Houshyar S., Mayadunne R., Gunatillake P., Stevens M. M.: *Biomaterials* **28**, 423 (2007).
50. Zhang J.-Y., Doll B. A., Beckmann E. J., Hollinger J. O.: *Tissue Eng.* **9**, 1143 (2004).
51. Yang L., Korom S., Welti M., Hoerstrup S. P., Zünd G., Jung F. J., Neuenschwander P., Weder W.: *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* **24**, 201 (2003).
52. http://www.degrapol.com/content/New_material_tissue_engineering.pdf, staženo 10. 8. 2018.
53. Edlund U., Albertsson A.-C.: *Adv. Drug Delivery Rev.* **55**, 585 (2003).
54. Wu J., Chu Ch.-Ch.: *Acta Biomater.* **8**, 4314 (2012).
55. Ohya Y., Hirai K., Ouchi T.: *Makromol. Chem.* **193**, 1881 (1992).
56. Praphakar R. A., Munusamy M. A., Sadasivuni K. K., Rajan M.: *Int. J. Pharm.* **513**, 628 (2016).
57. Zinn M., Witholt B., Egli T.: *Adv. Drug Delivery Rev.* **53**, 5 (2001).
58. Chen C., Dong L., Yu P. H. F.: *Eur. Polym. J.* **42**, 2838 (2006).
59. Pouton C. W., Akhtar S.: *Adv. Drug Delivery Rev.* **18**, 133 (1996).
60. Bissery M. C., Valeriote F., Thies C.: *Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioact. Mater.* **11**, 25 (1984).
61. Kawaguchi T., Tsugane A., Higashide K., Endoh H., Hasegawa T., Kanno H., Seki T., Juni K., Fukushima S., Nakano M.: *J. Pharm. Sci.* **81**, 508 (1992).
62. Jones R. D., Price J. C., Stuedemann J. A., Bowen J. M.: *J. Controlled Release* **30**, 35 (1994).
63. McLeod B. J., Haresign W., Peters A. R., Humke R., Lamming G. E.: *Anim. Reprod. Sci.* **17**, 33 (1988).
64. Collins A. E. M., Deasy P. B., MacCarthy D. J., Shanley D. B.: *Int. J. Pharm.* **51**, 103 (1989).
65. Žáková P., Slepíčková Kasálková N., Slepíčka P., Švorčík V.: *Chem. Listy* **111**, 223 (2017).
66. Guo B., Glavas L., Albertsson A.-C.: *Prog. Polym. Sci.* **38**, 1263 (2013).

M. Holická, J. Vysloužil, K. Kubová, J. Muselík, and D. Vetchý (*Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno*): **Synthetic Biodegradable Polymers for Parenteral Drug Administration**

This work provides a brief overview of synthetic (biosynthetic) biodegradable polymeric substances used in biomedical applications. Some of them have been used for many years, others are less known and still others are being studied and included in common use. The research and development of these biodegradable materials seeks to integrate them into the largest possible spectrum of dosage forms where degradation is desirable. In addition to one of the first established synthetic biodegradable polymers, that is, those of lactic acid, glycol and their copolymers, the group of polyanhydrides is extensively studied for the use

in the pharmaceutical industry and was approved by the US FDA. Polyurethanes have achieved a wide application in orthopedic applications, bone tissue engineering and oncological indications. A great potential of immunostimulating polyphosphazenes predestines them as a new alternative for vaccine administration. Interestingly, there is a relatively new way of production of bacterial polyesters (polyhydroxyalkanoates) with a great potential in pharmaceutical and medical applications.

Keywords: biodegradable polymers, degradation, microparticles, implants

Acknowledgements

This work was supported by grant from the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Grant number: QK1810221).