



بررسی خواص مخاط چسبی کیتوسان

سید مجتبی تقی زاده*، گلناز داوری

تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، صندوق پستی ۱۴۹۶۵/۱۱۵

دریافت: ۸۵/۹/۲۱، پذیرش: ۸۶/۹/۷

چکیده

استفاده از سامانه‌های ره‌ایش کنترل شده دارو از جمله روش‌های جدید دارورسانی است که به کمک آن می‌توان دارودرمانی را به طور مؤثر و با عوارض جانبی کمتر انجام داد. پلیمرهای مخاط چسب از جمله کیتوسان نوعی از این سامانه‌ها هستند که به دلیل زیست‌سازگاری، زیست‌چسبندگی و قابلیت زیاد جذب داروهای پپتیدی، انتخاب مناسبی برای این سامانه‌ها به شمار می‌آیند. از آنجا که مسیرگوارش دارای pH اسیدی تا بازی است. بنابراین، در این پژوهش برهم‌کنش موسین و کیتوسان و تورم کیتوسان در دو محیط مختلف با pH برابر ۵/۵ و ۷/۴ بررسی شد. این بررسی با اندازه‌گیری مقدار موسین جذب سطحی شده روی قرص‌های کیتوسان به کمک روش طیف‌سنجی فرابنفش انجام شد. بررسی نتایج نشان می‌دهد که شدت برهم‌کنش، وابسته به pH محیط مورد آزمایش است.

واژه‌های کلیدی

کیتوسان، مخاط چسبی،
تورم، موسین،
جذب سطحی

*مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

s.m.taghizadeh@ippi.ac.ir

Study on Mucoadhesion Properties of Chitosan

S.M. Taghizadeh* and G. Davari

Iran Polymer and Petrochemical Institute, P.O. Box: 14965/115, Tehran, Iran

Abstract

Using controlled drug delivery devices is one of the novel methods of drug delivery which is used to perform drug therapy with the minimum side effects. Mucoadhesive polymers are one of these devices. Chitosan is a natural polymer which is a suitable candidate for this purpose due to its biocompatibility, bioadhesion and high capability to adsorb peptide drugs. Since GI tract has both acidic and basic pH, in this study the interaction between mucin and chitosan as well as swelling of chitosan were investigated in two different media (pH= 5.5 and 7.4). The amount of surface adsorbed mucin was obtained by using spectroscopy. The results have shown that interaction intensity and swelling were pH dependent and reversible.

Key Words

chitosan, mucoadhesion,
swelling, mucin,
surface adsorption

(* To whom correspondence should be addressed.

E-mail: s.m.taghizadeh@ippi.ac.ir

مقدمه

امروزه به سامانه های دارورسانی زیست تخریب پذیر که برای رهایش کنترل شده پروتئین ها و پپتیدها به کار گرفته می شود توجه زیادی شده است [۱،۲]. نمونه ای از این سامانه ها، پلیمرهای مخاط چسب اند که یکی از خواص زیر را برای تأمین چسبندگی دارند:

دارای گروه های COOH و OH برای ایجاد پیوند با سطح لایه غشای مخاط، دارای بار سطح آنیونی، وزن مولکولی زیاد، انعطاف پذیری زیاد زنجیرها، کشش سطحی که موجب گسترش چسب به درون لایه غشایی مخاطی باشد، غیرسمی، غیرقابل جذب و غیرقابل برهم کنش با دارو باشد. افزون بر موارد گفته شده، شرایط فیزیولوژیکی مانند pH محیط و زمان بازسازی (turn over) لایه غشای مخاط نیز نقش عمده ای در خواص چسبندگی پلیمر ایفا می کند.

کیتوسان نیز دارای خواص مخاط چسبی است که از نیروهای جاذبه مولکولی از نوع برهم کنش الکتروستاتیک بین بار مثبت کیتوسان و بار منفی لایه غشای مخاطی منشأ می گیرد. کیتوسان یک گروه آمین نوع اول و دو گروه هیدروکسیل آزاد به ازای هر شش کربن واحد سازنده دارد. با توجه به سهولت در دسترس بودن گروه های آزاد آمین در کیتوسان، این پلیمر به خوبی می تواند با سطوح یا پلیمرهای دارای بار منفی واکنش دهد [۱].

در مورد مخاط چسبی دو مرحله اساسی وجود دارد. در مرحله اول که به مرحله تماسی موسوم است، تماسی اساسی بین مخاط چسب و لایه ژلی مخاط شکل می گیرد. در مرحله دوم که به مرحله یک پارچهگی (consolidation stage) موسوم است، اتصال چسبنده، مستحکم و یک پارچه شده تا یک چسبی با دوام را نتیجه دهد. به طور کلی مخاط چسبی بر اساس برهم کنش های فیزیکی و شیمیایی انجام می شود.

برهم کنش های شیمیایی شامل تشکیل پیوندهای غیرکووالانسی و کووالانسی و برهم کنش های فیزیکی شامل درهم نفوذ کردن، آب زدایی مخاط و در هم رفتگی زنجیرهای پلیمری است [۳].

لایه غشای مخاط که مخاط چسب به آن می چسبد، به طور عمومی از ۹ درصد آب، کمتر از ۵ درصد گلیکوپروتئین ها و لیپیدها، ۵ درصد نمک های معدنی و ۱ درصد کربوهیدرات ها و لیپیدها تشکیل شده است. از جمله گلیکوپروتئین های لایه غشای مخاط، موسین است که بیش از ۸۰ درصد ترکیبات آلی آن را شامل می شود و ساختار ژل مانند آن را کنترل می کند. یکی از اجزای مهم موسین سیالیک اسید است که نقش عمده ای در برهم کنش با کیتوسان ایفا می کند. با توجه به بررسی های انجام شده برهم کنش بین موسین و کیتوسان از نوع یونی و از پیوندهای غیرکووالانسی است و این برهم کنش میان پلیمر کاتیونی کیتوسان و گروه های آنیونی سیالیک اسید مخاط صورت می گیرد [۴،۵].

تورم یکی از اصول مهم در طراحی یک سامانه دارورسانی رهایش کنترل شده دارو است و عواملی که برانحلال پذیری و رفتار تورمی پلیمرها مؤثرند شامل ماهیت پلیمر و حلال، انعطاف پذیری زنجیر پلیمر، وزن مولکولی، ساختار بلوری و اتصال عرضی شیمیایی پلیمر است [۶،۷]. در این پژوهش با توجه به ویژگی های زیستی کیتوسان اثر pH بر مخاط چسبی کیتوسان در pH های مختلف بررسی شده است.

تجربی

مواد

کیتوسان از پوست خرچنگ با وزن مولکولی کم و درجه استیل زدایی (DD=۷۵٪ و $M_v=376 \times 10^{-5}$)، هیدروکلریک اسید از شرکت Fluka، موسین (نوع III، به طور جزئی خالص شده از معده خوک با محتوای سیالیک اسید ۱ درصد) از شرکت Sigma، استیک اسید، پریدیک اسید و فوشین بازی (Fuchin) (پاراسانیلین) از شرکت Merck، پتاسیم فسفات مونوبازی از شرکت Aldrich، سدیم هیدروکسید و سدیم متابی سولفیت صنعتی از شرکت های داخلی تهیه شدند.

دستگاه ها

در این پژوهش، برای انجام آزمایش های تشخیص کمی و نیز تعیین مقدار مخاط چسبی، دستگاه طیف سنجی فرابنفش (UV) مدل CECIL ۱۰۲۱ به کار گرفته شد.

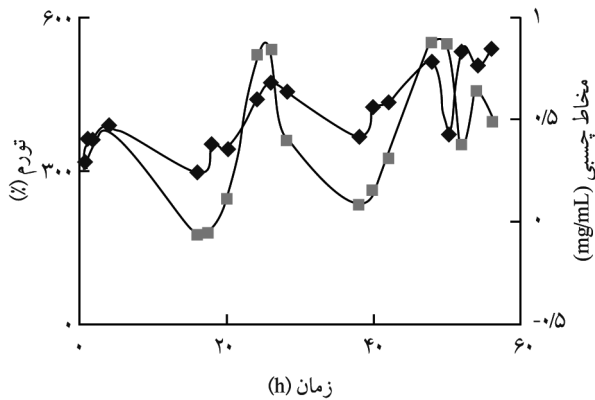
روش ها

تهیه قرص های کیتوسان

ابتدا ۵۰ mL محلول ۱ درصد (وزنی - حجمی) پلیمر در حلال ۱ درصد استیک اسید آبی تهیه شد. پس از حل شدن کامل پلیمر (در صورت لزوم برای حذف ناخالصی ها از صافی با مش ۴۰ mm استفاده شد) محلول در پتری دیش ریخته شده و در گرم خانه خلاء در دمای 60°C به مدت یک روز قرار گرفت. پس از خشک شدن، فیلم ها از پتری دیش جدا و با دستگاه پرس قرص هایی به قطر ۵ mm و ضخامت متوسط ۰/۸۵ mm تهیه شد [۸،۹]. محلول های بافر فسفات و آب مقطر با pH های به ترتیب ۷/۴ و ۵/۵ به عنوان محیط های آزمایش انتخاب شدند.

بررسی تورم

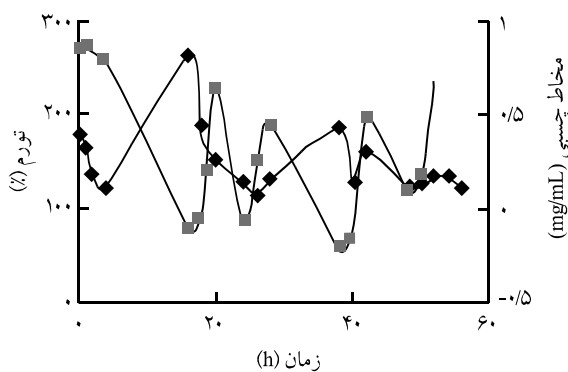
تورم قرص های کیتوسان در دو pH مختلف ذکر شده مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین ترتیب که قرص های کیتوسان در 37°C داخل محلول های



شکل ۱- نمودار تغییرات: (■) مخاط چسبی و (◆) تورم در pH = ۵/۵

در pH = ۵/۵ و مخاط چسبی بیشتر از pH = ۷ می‌باشد. روند منحنی‌های تورم و جذب سطحی در pH = ۵/۵ دارای ارتباط مستقیم ولی در pH = ۷/۴ دارای ارتباط معکوس است، این رفتار را می‌توان به این نحو توجیه کرد که در pH اسیدی هنگامی که جذب به بیشینه مقدار می‌رسد، تورم هم زیاد شده درحقیقت گروه‌های $-NH_2$ پروتون دار تبدیل به $-NH_3^+$ می‌شوند (شکل ۳) که این پروتون‌ها را هم از محیط و هم از سیالیک اسید می‌گیرد. بدین ترتیب کیتوسان به دلیل سهولت نفوذ محلول، متورم شده و از طرف دیگر برهم کنش بار منفی سیالیک اسید موجود در موسین و بار مثبت کیتوسان یک فرایند خنثی سازی یونی است که با تولید نمک همراه است، به همین دلیل هم زمان با افزایش تورم، جذب سطحی روی قرص‌ها نیز افزایش می‌یابد [۱۱].

ولی در pH برابر ۷/۴ هنگامی که جذب به بیشترین مقدار می‌رسد، تورم به حداقل مقدار کاهش می‌یابد، همچنین به دلیل عدم وجود H^+ در محیط، کیتوسان به وسیله سیالیک اسید پروتون دار شده و آنیون کربوکسیلات مربوط به اسید را تولید می‌کند (شکل ۴).



شکل ۲- نمودار تغییرات: (■) مخاط چسبی و (◆) تورم در pH = ۷/۴

بافر فسفات و آب قرار گرفتند. سپس، در فواصل زمانی معلوم نمونه‌ها از محلول‌ها خارج و سطح آنها با کاغذ صافی خشک و سپس توزین شدند. درصد تورم برای هر نمونه از معادله (۱) به دست آمد:

$$S = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (1)$$

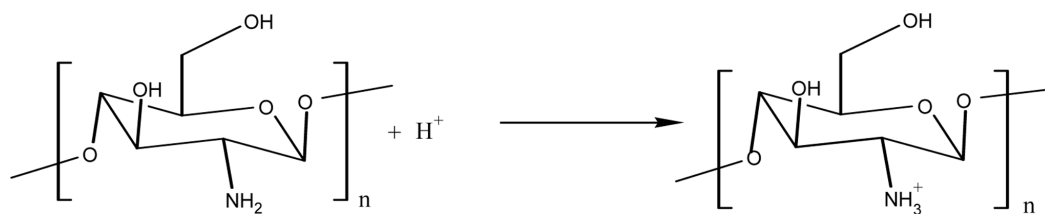
در این معادله W_0 وزن اولیه فیلم و W_t وزن فیلم متورم شده پس از زمان t است.

تعیین میزان مخاط چسبی

از روش رنگ سنجی پریدیک اسید شیف به منظور اندازه‌گیری غلظت موسین آزاد برای بررسی جذب سطحی موسین روی قرص‌های کیتوسان استفاده شد [۱،۲]. بدین منظور ابتدا دو معرف تهیه شد. اولین معرف شیف نام دارد که حاوی ۱۰۰ mL محلول‌های فوشین بازی ۱ درصد و ۲۰ mL محلول HCl با غلظت ۰/۱ M است. به هر ۶ mL معرف شیف قبل از استفاده ۰/۱ g سدیم متابی سولفیت اضافه و محلول حاصل در $37^\circ C$ نگهداری شد، تا به رنگ زرد کم رنگ در آید یا بی رنگ شود. دومین معرف پریدیک اسید است که با افزودن ۱۰ mL محلول پریدیک اسید ۵۰ درصد به ۷ mL محلول استیک اسید ۷ درصد به دست می‌آید. پس از افزودن ۰/۲ mL معرف پریدیک اسید نمونه‌ها در $37^\circ C$ به مدت ۲ h در حمام آب نگهداری شدند. در دمای محیط ۰/۲ mL معرف شیف به نمونه‌ها اضافه شد. ۳۰ min بعد در بیشینه طول موج ۵۵۵ nm با دستگاه UV جذب نمونه‌ها ثبت شد [۱۰]. با توجه به این که مقدار جذب موسین به وسیله کیتوسان معیاری برای ارزیابی مخاط چسبی آن است، جذب نمونه‌ها نیز با همین روش ثبت و غلظت موسین موجود در محلول به دست آمد (حجم و غلظت اولیه تمام نمونه‌ها ۲ mL و ۰/۵ mg/mL بوده است). هم زمان با اندازه‌گیری مخاط چسبی، درصد تورم قرص‌های کیتوسان نیز مطالعه شد که مقادیر این دو در شکل‌های ۱ و ۲ آمده است.

نتایج و بحث

با توجه به روش‌های ذکر شده، تورم و جذب سطحی کیتوسان در دو pH برابر ۵/۵ و ۷/۴ به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ آمده است. با توجه به شکل‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود که اولاً در هر دو pH واکنش جذب سطحی و تورم دارای ساز و کار برگشت پذیر است، به عبارت دیگر مقدار آن با گذشت زمان افزایش نمی‌یابد. ثانیاً بیشینه تورم

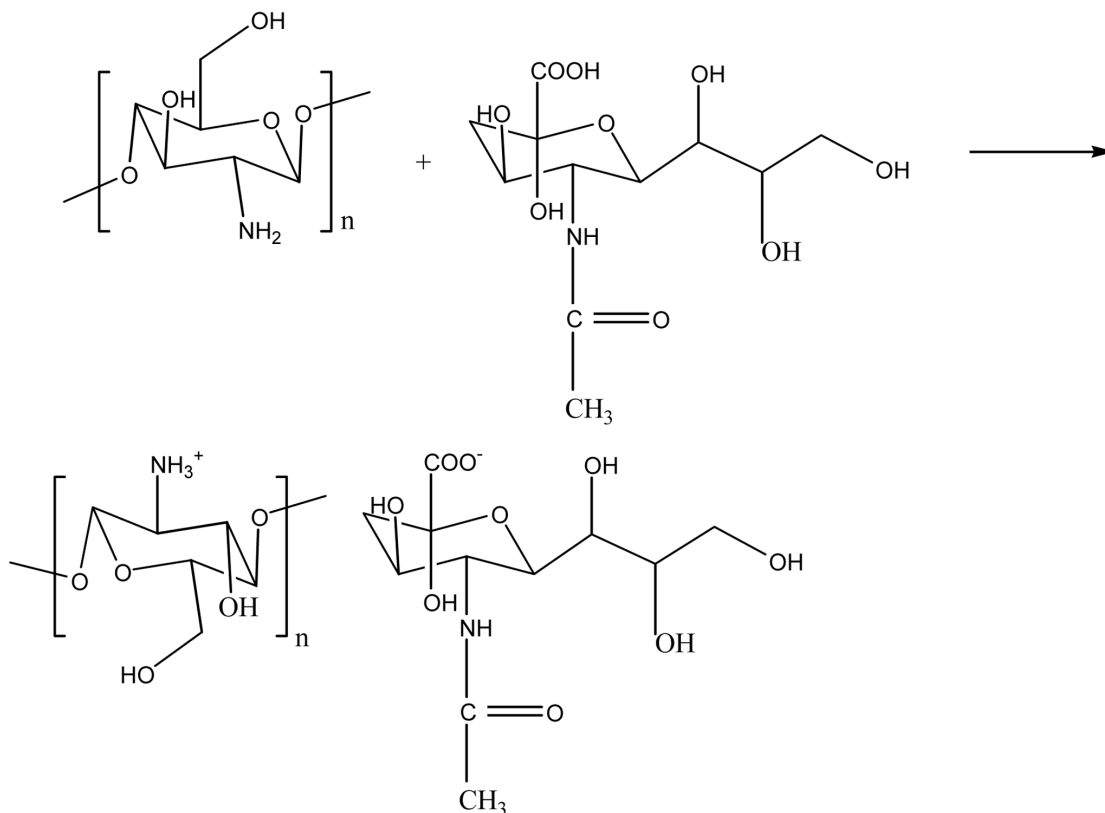


شکل ۳- واکنش پروتون دار شدن کیتوسان در محیط اسیدی.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده شدت برهم کنش موسین و کیتوسان وابسته به pH محیط مورد آزمایش است. جذب سطحی و تورم در هر دو pH دارای ساز و کار برگشت پذیرند و مقدار آن با گذشت زمان افزایش نمی یابد. همچنین، در pH= ۵/۵ منحنی های تورم و جذب سطحی دارای ارتباط مستقیم اند، در حالی که در pH= ۷/۴ ارتباط معکوس دارند.

با گذشت زمان مقدار NH_3^+ افزایش، مقدار پیوند هیدروژنی کیتوسان با محلول کاهش و تورم قرص افزایش می یابد. با افزایش مقدار NH_3^+ و COO^- در محیط، بین این دو، واکنش خنثی سازی و تولید نمک انجام می گیرد. از طرفی با گذشت زمان مقدار نمک جذب سطحی شده روی قرص افزایش یافته و چون در تماس با محلول اطراف است، درون محلول حل می شود (تشکیل نمک و انحلال آن در تعادل باهم هستند) [۱۲،۱۳] و دوباره سطح جدیدی از قرص در تماس با محلول قرار می گیرد و روند قبل دوباره تکرار می شود. از طرف دیگر به دلیل کمبود H^+ در محیط برای پروتون دار شدن گروه های آمین، تورم کاهش می یابد. بدین ترتیب با پیشرفت واکنش جذب، مقدار تورم کاهش می یابد.



شکل ۴- واکنش بین کیتوسان و سیالیک اسید در pH = ۷/۴.

مراجع

1. Sanju D., Kumar Singla A. and Sinha V.R. Evaluation of Mucoadhesive Properties of Chitosan Microspheres Prepared by Different Methods. *American Association of Pharmaceutical Scientist (AAPS) Pharm SciTech*, **5**, Article 67, 2004.
2. He P., Davis S.S. and Illum L., In Vitro Evaluation of the Mucoadhesive Properties of Chitosan Microspheres. *Int. J. Pharm.*, **166**, 75-88, 1998.
3. Dumitriu S., *Polymeric Biomaterials*, Marcel Dekker, New York, 147-152 and 213-215, 2001.
4. Peppas N.A. and Huang Y., Nanoscale Technology of Mucoadhesive Interactions. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **56**, 1675-1687, 2004.
5. Harding S.E., Mucoadhesive Interactions. *Biochem. Soc. Trans.*, **31**, 1036-1041, 2003.
6. Yun L.G., Shao L. and Yao K.D., A Study on Correlation between Water State and Swelling Kinetics of Chitosan-based Hydrogels, *J. Appl. Polym. Sci.*, **61**, 2325-2335, 1996.
7. Gupta K. and Kumar M.R., Preparation, Characterization and Release Profiles of pH-sensitive Chitosan Beads, *Polym. Int.*, **49**, 141-146, 2000.
8. Taghizadeh S.M., Takrousta M., Davari G. and Yousefi M., Preparation of Chitosan with Different Degrees of Deacetylation and Comparison of its Different Characterization Methods, *Iran. J. Polym. Sci. Technol.*, **17**, 291-297, 2005.
9. Nakatsuka S. and Andraday A.L., Permeability of Vitamin B-12 Chitosan Membranes, Effect of Crosslinking and Blending with Poly(vinyl alcohol) on Permeability, *J. Appl. Polym. Sci.*, **44**, 17-28, 1992.
10. Miglani S., Preparation and Evaluation of Controlled Release Oral Dosage forms of Glipizide and Nifedipine, Chandigarh, Panjab University, India, 2002.
11. Taghizadeh S.M. and Davari G., Preparation, Characterization, and Swelling Behavior of N-Acetylated and Deacetylated Chitosans, *Carbohydr. Polym.*, **64**, 9-15, 2006.
12. Parsafar Q.A. and Najafi B., Chemical Kinetic and Statistical Dynamics, Isfahan University of Technology, 1371.
13. Pimentel Gorge C. and Spratley D., *Understanding Chemical Thermodynamics*, Holden-Day, 1969, (Translated by Khojeh Sasir Tosi Ahmad, 1363, Chap. 1).