

تهیه هیدروژل های پلی متاکریلیک اسید- پلی اتیلن گلیکول حاوی ۵-آمینوسالیسیلیک اسید

دکتر سودابه داوران^۱ - دکتر محمدرضا رشیدی^۲ - دکتر بیتا ارشاد پور^۳

Title: Preparation of (poly methacrylic acid-poly ethyleneglycol) hydrogels containing 5-aminosalicylic acid

Authors: Sodابه Davaran¹, Mahammad Reza Rashidi², Bita Ershadpour³

Abstract: pH sensitive hydrogel networks comprising a poly (methacrylic acid) backbone and poly ethylene glycol ester of 5-amino salicylic acid were synthesized by associated complex formation, and their equilibrium swelling properties were characterized in water and aqueous solutions of ethanol. The release profiles of hydrogels were obtained by hydrolysis in buffered solutions (pH 1.2, 7.2 and 8.5). These hydrogels are known to exhibit swelling transitions in response to formation of hydrogen bonded complexes. The composition of hydrogels and pH value of hydrolysis medium are known two important factors in hydrolysis behavior of polymers.

Key words: 5-amino salicylic acid, poly ethylene glucol, poly methacrylic acid, hydrogel, hydrolysis.

۱- استادیار دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

1- Assistant Professor, School of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences.

۲-استاد یار مرکز تحقیقات کاربردی داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

2-Assistant Professor, Medicinal Chemistry Drug Applied Research Center, Tabriz, University of Medical Sciences.

3- Pharm D

۳- دکتر داروساز

خلاصه

هیدروژلهای حساس به pH متشکل از پلی متاکریلیک اسید و استراتیلن گلیکول -۵- آمینوسالیسیلیک اسید بطریق تشکیل کمپلکس های آسوسیه تهیه شده و خواص تورمی آنها در آب و مخلوط آب - اتانول مورد بررسی قرار گرفت. رفتار هیدرولیزی پلیمرها و نحوه رهش دارو از هیدروژل در محیط های بافری با pH ۸,۵، ۷,۲ و ۱,۲ مطالعه شد نتایج نشان دادند که میزان تورم هیدروژل ها به علت تشکیل پیوند های هیدروژنی به محیط و نوع حلال بستگی دارد همچنین درصد اجزاء سازنده هیدروژل و pH محیط هیدرولیز از عوامل اصلی موثر در هیدرولیز پلیمر و آزاد شدن ۵ - آمینوسالیسیلیک اسید می باشند. برخی از این هیدروژل ها برای استفاده در سیستم های دارورسانی ویژه کولون معرفی شدند.

کل واژگان : ۵- آمینوسالیسیلیک اسید، پلی اتیلن گلیکول، پلی متاکریلیک اسید، هیدروژل، هیدرولیز

مقدمه

هزاران نفر در سراسر جهان از بیماریهای التهابی روده بزرگ رنج می برند و همه ساله موارد جدیدی به این تعداد افزوده می شود. کولیت اولسراتیو، بیماری کرون و سندرم روده تحریک پذیر (IBS) از جمله اشکال شایع بیماریهای التهاب روده بزرگ (IBD) هستند. با توجه به واقع شدن کولون در انتهای دستگاه گوارش انتقال عامل های درمانی به این محل به طراحی سیستم های دارورسانی ویژه ای نیاز دارد که ماده موثر را قبل از رسیدن به محل اثر از حملات آنزیمی و تغییرات شیمیایی حفظ کند.

در حال حاضر سیستم های دارورسانی خوراکی ویژه کولون به دو منظور درمان موضعی بیماری های کولون و تهیه اشکال خوراکی داروهای پپتیدی و پروتئینی طراحی می شوند (۴-۱). در تهیه این سیستم ها سه ویژگی اساسی کولون مدنظر قرار می گیرد :

۱- قابلیت تجزیه انواع ترکیبات و پیوندهای شیمیایی توسط میکروفلورای روده بزرگ از طریق واکنشهای هیدرولیزه احیاء و آلکیلاسیون و دهیدروکسیلاسیون
۲- زمان طولانی توقف مواد در کولون (Prolonged resistance time)

۳- پایین بودن فعالیت پپتیدازها و پروتئازها در کولون
روشهای مهم تهیه سیستم های دارورسانی ویژه کولون براساس ویژگی های فوق عبارتند از پوشش دادن شکل دارویی با پلیمرهای حساس به pH قابل متلاشی شدن در کولون و تهیه پیش داروهای معمولی و یا پلیمری قابل تجزیه در کولون. ساختمان پیش داروها طوری طراحی و سنتز می گردد که مشتق حاصل قادر به آزاد کردن داروی اصلی در کولون و یا انتهای روده باریک باشد. سولفاسالازین نمونه موفقی از این نوع پیش داروهاست که از طریق احیای گروه آزو در کولون می تواند ماده موثر (۵- آمینوسالیسیلیک اسید) را آزاد کند.

گیری ها بوسیله اسپکتروفوتومتر شیمادزو ۲۱۰۰ انجام گرفته اند.

کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز (۵-آمینو سالیسیلیک اسید، پلی اتیلن گلیکول، دی سیکلو هگزیل کربودی ایمید، دی متیل آمینو پیریدین و حلال ها) از کمپانی مرک تهیه شده و با روش مرسوم، خالص سازی شده اند.

سنتز پلی اتیلن گلیکول -۵- آمینوسالیسیلات (استرهای PEG)

پلی اتیلن گلیکول (Mw= ۱۰۰۰۰) ۲۵ گرم و دی متیل آمینوپیریدین (DMAP) ۰/۱۵ گرم (۰/۰۲۵mol) در ۲۰ ml دی متیل فرمامید حل می شود. دمای واکنش با آب یخ به صفر درجه سانتیگراد رسانده شد. ۱/۰۲ گرم (۰/۰۵mol) دی سیکلو هگزیل کربودی ایمید (DCC) و ۰/۰۱۵ mol ۵-آمینوسالیسیلیک اسید (5-ASA) اضافه می شود. مخلوط ۲ ساعت بهم زده می شود رسوب دی سیکلو هگزیل اوره صاف شده و حلال تقطیر می گردد باقی مانده با استون استخراج شده و با اتر سرد رسوب داده می شود. برای خروج 5-ASA اضافه می شود. مخلوط ۲ ساعت بهم زده می شود. رسوب دی سیکلو هگزیل اوره صاف شده و حلال تقطیر می گردد. باقی مانده با استون استخراج شده و با اتر سرد رسوب داده می شود. برای خروج 5-ASA اضافی پلیمر دوباره در تتراکلرید کربن حل شده و مجدداً رسوب داده می شود. محصول با ۷۶٪ بهره بدست می آید.

بررسی های بیشتر نشان می دهد که در دارو درمانی هدف دار کولون، پیش داروهای پلیمری موفق تر از مشتقاتی که جرم مولکولی پایین دارند عمل می کنند(۵).

اکثر پیش داروهای پلیمری براساس احیای انتخابی مشتقات آزو در کولون طراحی شده اند این سیستم ها اگرچه در دارورسانی ویژه کولون موثر هستند، لکن مشکل سمیت بالقوه گروه آزو و متلاشی شدن به اجزاء کارسینوژن را حفظ کرده اند (۵).

در کار تحقیقی حاضر روش سنتز پیش داروی استری پلی اتیلن گلیکول ۵- آمینوسالیسیلیک اسید (پلی اتیلن گلیکول - ۵- آمینوسالیسیلات) و تبدیل آن به نوعی هیدروژل ترکیبی در اثر آسوسیه شدن با پلی متاکریلیک اسید (PMAA) گزارش شده است رفتار تورمی پلیمر و همچنین هیدرولیز آن در pHهای متفاوت بررسی شده و مناسبترین ترکیب برای تهیه هیدروژل ارائه شده است. برخی از این پلیمرها که از ویژگی های مورد نظر برخوردار بوده اند جهت طراحی سیستم های داروسازی ویژه کولون پیشنهاد شده اند.

بخش تجربی

مواد و دستگاههای مورد استفاده

طیفهای IR و H-NMR به ترتیب در دستگاه شیمادزو ۴۳۰۰ و AM400 تهیه شده اند مقدار داروی آزاد شده از پلیمر بوسیله اسپکتروفوتومتر UV در طول موج جذب ماکزیم دارو (pH= ۷,۲ و $\lambda_{max}=328$ و pH= ۱,۲ و $\lambda_{max}=330$ و $\lambda_{max}=339$ و pH) اندازه گیری شده است اندازه

تهیه هیدروژل های پلی متاکریلیک اسید -

استر PEG

استر پلی اتیلن گلیکول -۵- آمینوسالسیلات با وزن معین در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل میشود. پلی متاکریلیک اسید (PMAA) با جرم مولکولی متوسط ۱۲۰۰۰ در آب حل شده دو محلول با یکدیگر مخلوط می شوند (نسبتهای وزنی ۴۵٪، ۱۵٪ و ۱۰۰٪ از استر PEG) رسوب حاصل جدا شده و به مدت ۴ روز در دمای ۸۰ °C خشک می شود (تا زمانی که وزن ثابت بدست آید). کمپلکس های حاصل به ترتیب با PEG-45 (۴۵٪ استر PEG)، PEG-15 (۱۵٪ استر PEG) و PEG-100 (۱۰۰٪ استر PEG) نشان داده شده اند.

اندازه گیری اندیس تورم پلیمرها در آب (Is%)

یک گرم از پلیمر خشک در دمای ۳۷°C در آب مقطر شناور می شود. نمونه متورم از آب خارج شده و پس از خارج نمودن آب اضافی در اثر فشار دادن در میان کاغذ صافی وزن می شود و مجدداً در آب شناور می گردد. در فواصل زمانی معین این عمل تکرار می شود تا زمانی که وزن پلیمر متورم تغییر نکند.

$$\text{Is\%} = \frac{\text{وزن نمونه خشک} - \text{وزن نمونه متورم}}{\text{وزن نمونه متورم}}$$

روش هیدرولیز و اندازه گیری داروی آزاد شده

نمونه پلیمری کاملاً خشک از الک سیمی ۲۰۰ مش عبور داده می شود. ۲۰۰ mg از پلیمر به دقت وزن شده و به داخل کیسه دیالیز محتوی ۵ ml محلول بافر فسفات (pH=7.2, 1.2 8.5) منتقل می شود کیسه بدقت تا شده و در داخل بالن حاوی ۲۵ ml از همان بافر شناور می شود و در حمام آب با دمای ۳۷ ± ۱ °C بطور یکنواخت بهمزده می شود در فواصل زمانی معین ۳ ml از محلول بافر داخل بالن نمونه برداری شده و شدت جذب محلول بوسیله اسپکتروفوتومتر UV در طول موج جذب ماکزیمم اندازه گیری می شود. مقدار ASA-۵ آزاد شده از روی منحنی کالیبراسیون که در همان شرایط تهیه می شود تعیین می گردد.

نتایج

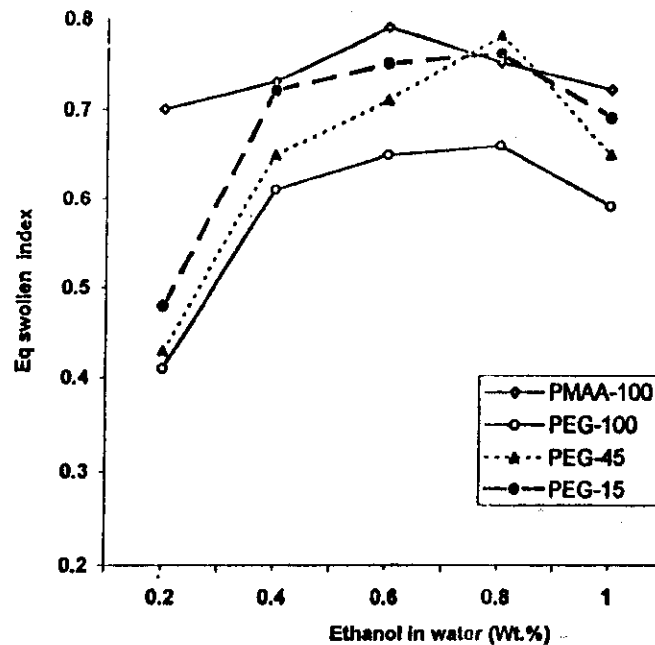
استرهای پلی اتیلن گلیکول (۱۰۰۰۰ و ۶۰۰۰) با ۵- آمینوسالسیلیک اسید با درصدها متفاوت از پلی متاکریلیک اسید (PMAA) مطابق با جدول ۱ ترکیب داده شده اند.

جدول ۱- درصد اجزای سازنده دارای حمل شده در هیدروژل ها

نام نمونه	درصد PEG در کمپلکس	درصد PMAA در کمپلکس	درصد داروی حمل شده در هیدروژل	جزء مولی آب در حالت متورم
PEG-100	۱۰۰	-	۳/۵۰	۰/۳
PEG-45	۴۵	۵۵	۱/۷	۰/۴۳
PEG-15	۱۵	۸۵	۰/۴	۰/۴۵
PMAA-100	-	۱۰۰	-	۰/۴۸

برای بررسی نحوه تأثیر محیط تورم بر روی درصد تورم پلیمر مخلوط آب - اتانول مورد استفاده قرار گرفت. شکل ۱ نمودار تأثیر نسبت حلال ها را بر روی اندیس تورم چهار نوع کمپلکس پلیمری حاوی دارو نشان می دهد.

اندیس تورم پلیمر که معادل با جزء مولی حلال در پلیمر متورم است در آب خالص و مخلوط آب - اتانول اندازه گیری شد و در هر دو مورد با PMAA خالص و PEG خالص مقایسه گردید جدول ۱ مقدار % Is (اندیس تورم پلیمر) در آب را برای ترکیب مختلف از پلیمرها نشان میدهد..



شکل ۱- منحنی تغییرات جزء مولی حلال در پلیمر متورم نسبت به درصد اتانول در آب

شده از سه نوع کمپلکس را در pH های اسیدی، بازی و خنثی نشان میدهد.

نحوه هیدرولیز پلیمر حامل دارو در سه pH اسیدی، بازی، خنثی بررسی شد و منحنی تغییرات غلظت نسبت به زمان ترسیم گردید. جدول ۲ درصد داروی آزاد

جدول ۲- درصد داروی آزاد شده از کمپلکس های حاوی دارو در pH و زمانهای مختلف

درصد آزاد شدن دارو از پلیمر در اثر هیدرولیز									زمان (ساعت)
PEG-100			PEG-45			PEG-15			
PH			PH			PH			
۱/۲	۷/۲	۸/۵	۱/۲	۷/۲	۸/۵	۱/۲	۷/۲	۸/۵	
۱/۵	۲/۳	۵/۵	۳/۸	۷/۲	۱۸	۳/۲	۶/۰۱	۱۰/۳	۴
۲/۳	۳/۰۱	۶/۷	۶/۰۳	۱۵/۱	۲۳/۳	۵/۸	۱۴/۳	۲۰/۸	۸
۳/۴	۴/۲	۷/۳	۹/۹۲	۱۹/۲	۲۶/۲	۹/۷۱	۱۸/۹	۲۴/۵	۱۲
۴/۸	۵/۶	۸	۱۳/۳	۲۵/۴	۲۸/۳	۱۲/۴	۲۴/۳	۲۵	۱۶
۱۰/۳	۱۰/۵	۱۸/۳	۱۳/۹	۲۶/۸	۳۴/۵	۱۲/۸	۲۵/۸۱	۳۲/۱	۲۰
۱۱	۱۱/۲	۱۹/۲۵	۱۴/۲	۲۷/۰۹	۳۸	۱۳/۱	۲۶/۲	۳۲/۹	۲۴

بحث و بررسی

سننتز استر پلی اتیلن گلیکول ۵-

آمینوسالیسیلات

استری شدن مستقیم ASA-۵ با پلی اتیلن گلیکول (PEG) در حضور معرف های فعال کننده مانند DCC و DMPA بویژه در مواردی که جرم مولکولی PEG نسبتا پایین است با بهره قابل قبولی اجرا می شود با توجه به اینکه دو عامل هیدروکسی انتهایی در PEG وجود دارد، مونواستر و دی استر هر دو تشکیل می گردند که امکان جداسازی آنها کم است اما می توان این دو محصول را از PEG واکنش نداده بطریق تکرار فرآیند انحلال و ترسیب مجدد در اثر جدا نمود تماس محصولات با آلومینا بمدت ۲ روز به حذف مولکولهای PEG واکنش نداده کمک می کنند.

تهیه کمپلکس های پلی متاکریلیک اسید -

استر PEG

مشتق استری پلی اتیلن گلیکول - ۵-

آمینوسالیسیلیک اسید اگرچه می تواند به عنوان یک سیستم آهسته رهش عمل کند اما هیدرولیز گروه استری در تمام نواحی دستگاه گوارشی امکانپذیر است اگر این سیستم بصورت هیدروژل هایی که تمایل بیشتر به تورم در محیط های بازی دارند تهیه شود ادغام دو ویژگی یعنی رهش آهسته و حساسیت به pH می تواند منجر به نوعی دارورسانی هدف دار به قسمتهای انتهایی روده کوچک و یا ابتدای روده بزرگ گردد. هیدروژل های PEG با روشهای متنوع از قبیل تاننش های گاما، ایجاد اتصالات عرضی بین زنجیری با انواع ترکیبات آلی و پلیمریزاسیون مشتقات دو عاملی پلی اتیلن گلیکول دی متاکریلات قابل تهیه هستند.

روشی که در این مقاله ارائه شده است

براساس تهیه کمپلکس های آسوسیه PEG با پلی متاکریلیک اسید (PMAA) است. PEG با جرم مولکولی بالاتر از ۲۰۰۰ براحتی در آب حل می شود. اگر این محلول با محلول PMAA در آب مخلوط شود بسته به درصد اجزاء سازنده pH و شرایط واکنش

امکان تشکیل ژل، رسوب و یا سفت شدن مخلوط وجود دارد هیدروژل هایی که با این روش از واکنش PEG با PMAA تهیه می شوند از تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین زنجیری اساسا بین اتم اکسیژن در زنجیرهای PEG هیدروژن گروه هیدروکسی در واحدهای کربوکسیلیک PMAA ناشی می گردند.

قدرت و میزان تشکیل کمپلکس به تاکیسیته PMAA نیز بستگی دارد انتظار می رود با پلیمر کاملاً ایزوتاکتیک هیدروژلهای محکمتری تشکیل گردد (۶).

جدول ۱ نشان می دهد که وجود PEG در کمپلکس درصد تورم PMAA در آب را کاهش می دهد از سوی دیگر وقتی مخلوط آب - اتانول مورد استفاده قرار می گیرد. درصد اتانول بر روی تغییرات Is موثر است. وقتی مقدار اتانول کم است (جزء ۲، ۰) وجود استر PEG-۵-آمینوسالیسیلیک اسید بطور قابل ملاحظه ای مقدار Is را در مقایسه با PMAA خالص کاهش میدهد در حالی که در درصد های بالاتر از اتانول (جزء مولکولی ۰،۹) تفاوت چندان زیادی مشاهده نمیشود نتایج بدست آمده تقریباً با نتایج حاصل از هیدروژل های PEG-PMAA که بطرق شیمیایی تهیه شده اند مطابق است (۷).

رفتار هیدرولیزی استر PEG و کمپلکس های آن با PMAA

در بررسی های رفتار هیدرولیزی پلیمر در مورد نمونه هایی که مقدار معادل ۵-آمینوسالیسیلیک اسید دارند سه عامل مهم یعنی پایداری هیدروژل درصد تورم در pH های مختلف و درصد هیدرولیز پیوند استری در pH های مختلف دخیلند. معمولاً کمپلکس های پایدار

زمانی تشکیل می شود که جرم مولکولی زنجیرهای آسوسیه شده بهم نزدیک باشد (۸).
براین اساس رفتار هیدرولیزی کمپلکس PEG ۱۰۰۰۰ با PMAA ۱۲۰۰۰ مورد بررسی قرار گرفت.

بطوری که در جدول ۲ نشان می دهد درصد داروی آزاد شده در نمونه های پلیمری در هر مقدار pH پس از دوازده ساعت هیدرولیز کمتر از ۳۰٪ است در pH های اسیدی تفاوت چندان در مقدار داروی آزاد شده در سه نمونه پلیمری مشاهده نمی شود. در حالی که در pH های قلیایی وقتی درصد PMAA ۵۵٪ است (PEG-45) مقدار داروی آزاد شده پس از ۲۴ ساعت بطور قابل ملاحظه ای در مقایسه با کمپلکس های دیگر بالاست. واحدهای پلی متاکریلیک اسید، در محیط های قلیایی یونیزه می شوند و آنیونهای کربوکسیلات در اثر نیروی دافعه الکترواستاتیک از هم فاصله گرفته و درصد تورم پلیمر در آب افزایش می یابد. وقتی درصد PMAA ۸۵٪ است (PEG-15) درصد داروی آزاد شده کم میشود چون هیدرولیز روی وزن های مساوی از پلیمرها (۲۰۰mg) انجام گرفته است. با کم شدن درصد PEG در کمپلکس مقدار دارو در کمپلکس کاهش می یابد. بنابراین مناسبترین نسبت برای حمل مقدار معقول از دارو و بررسی هیدرولیز PEG-45 است.

نتیجه گیری نهایی

حساسیت رفتار تورمی هیدروژل نسبت به pH ویژگی قابل ملاحظه ای است که می تواند در تهیه سیستم های خوراکی ویژه کولون علاوه بر درمان ناهنجاری های روده بزرگ به عنوان حامل داروهای پروتئینی و پپتیدی (مانند انسولین) بکار رود. ژل های مشبک پلی (اتیلن

حاوی استر فرصت کافی برای رساندن ماده موثر به کولون را خواهد داشت به علت خواص موکودهزیو PMAA و امکان باقی ماندن طولانی مدت آن در کولون انتظار می رود دارو بتدریج و با سرعت قابل کنترل اختصاصاً در کولون آزاد شود. بنابراین علاوه بر تهیه سیستم های حاوی -ASA ۵ می توان در آینده مطالعات بیشتری بر روی امکان استفاده از این روش در دارو رسانی پپتید ها و پروتئین ها نیز انجام داد.

گلیکول - متاکریلیک اسید) در دارورسانی انسولین فعال بیولوژیکی مؤثر شناخته شده اند. (۹) در این هیدروژل وجود PEG در ساختمان ژل ضروری است زیرا از طریق تشکیل پیوند هیدروژنی باعث پایداری پپتید و افزایش خواص موکودهزیوپلیمر می شود.

نتایج نشان می دهد که سیستم پلیمری تهیه شده در این کار نیز حساس به pH بوده و می تواند در طراحی سیستم های دارورسانی ویژه کولون بکار رود زمان هیدرولیز گروه استری به اندازه کافی طولانی بوده و هیدروژل

References:

- Schacht E., Gevaert, A. Kenawy E.R., polymers for colon specific drug delivery, *J. control. Release*, 1996, 39: 327-338.
- Davaran, S., Hanaee, J., Release of 5-amino salicylic acid from acrylic type polymeric prodrugs designed for colon-specific drug delivery, *J. Control Release*, 1999, 58: 279-287.
- Buonaguidi M., Carelli V, Colo G.C., Evaluation of a pH-sensitive semi-interpenetrating polymer network for control of GI drug delivery, *Int J. pharm.*, 1997, 147: 1-10.
- Rubinstein A., Tirosh B., Baluom M. The rationale for drug delivery to colon and the potential of polymeric carriers as effective tools. *J. control. Release*, 1997, 46: 59-73.
- Van Den Mooter G., Maris B., Use of azo polymers for colon-specific drug delivery, *J. pharm Sci*, 1997, 86 (12): 1321-1327.
- Smith K.L., Winslow A.E., Peterson D.E. Association reactions for polyalkylene oxides and poly carboxylic acids, *Ind. Eng. Chem.*, 51, 1361, 1959.
- Mathur, A.M., Hammonds, K.F., Klier, J., Scranton, A.B. Equilibrium swelling of poly (methacrylic acid-g- ethyleneglycol) hydrogels Effect of swelling of medium and synthesis conditions. *J. Control Release*, 1998, 54: 177-184.
- Bailey, F.E., Lundberg, Jr. Some factors affecting the molecular association of poly ethylene oxide and poly acrylic acid in aqueous solutions. *Polym. Sci part A*, 1964, 2: 845-848.
- Lowman, A.M., Morishita, M., Kajita, M. and Peppas, N.A, Oral delivery of insulin using pH- Responsive complexation gels. *J. pharm. Sci*, 9222 : (9)88, 1999.