

УДК 544.773.43:539.219

Вакулюк П. В., Фуртат І. М., Вортман М. Я., Шеремет А. А.,
Бондаренко К. В., Бурбан А. Ф., Шевченко В. В.

СИНТЕЗ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА рН-ЧУТЛИВИХ ГІДРОГЕЛІВ ЯК МАТРИЦЬ ДЛЯ ІНКОРПОРАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

Розроблено методику синтезу поліакриламідних гідрогелів із використанням гуанідиновмісного олігомеру та встановлено, що його введення надає їм рН-чутливості. Досліджено кінетику вивільнення венорутинолу за різних умов оточуючого середовища та показано, що його інкорпорація у гідрогелеві носії подовжувала час вивільнення на 72 години. Результати дослідження є важливим підґрунтям для подальшого створення рН-чутливих гідрогелевих носіїв, що можуть бути використані для цілеспрямованої доставки ліків і регульованої кінетики їхнього вивільнення.

Ключові слова: рН-чутливі гідрогелі, гуанідиновмісний олігомери, кінетика контрольованого вивільнення.

Вступ

Відомо, що традиційні лікарські форми (таблетки, капсули, мазі, розчини для ін'єкцій, тощо), які нині використовуються, переважно не є

функціонально оптимальними. Лише мала частка (приблизно 10 %) діючої речовини досягає місця призначення, тоді як решта, у кращому випадку, не приносить користі або, як правило,

шкідлива, оскільки виявляє небажану фізіологічну активність і викликає токсичну дію в інших частинах організму [1]. До того ж швидке виведення ліків з організму зумовлює потребу їхнього повторного багаторазового введення для підтримання терапевтичної дії, що ще більше посилює їхню шкідливу побічну дію [2]. Тому одним із важливих і перспективних напрямів застосування функціонально-активних гідрофільних полімерів є створення систем пролонгованої та спрямованої вивільнення ліків.

Застосування лікарських препаратів пролонгованої дії не лише дає змогу зменшити загальну кількість засобу, що вводиться в організм, а й має низку інших суттєвих переваг. Завдяки застосуванню пролонгованих форм лікарських засобів зменшуються або усуваються коливання концентрації активної речовини у крові й тканинах, неминучі за періодично повторюваних прийомів препаратів у традиційній формі; за умови подовження дії у макроорганізмі може підтримуватися постійна концентрація активної речовини, яка не перевищує терапевтичні дози, як це часто буває при вживанні традиційних лікарських форм препаратів. Застосування лікарських засобів пролонгованої дії забезпечує можливість зниження частоти прояву побічних ефектів (у тому числі й завдяки усуненню подразнювальної дії ліків на шлунково-кишковий тракт за перорального внесення), зменшує ймовірність небажаних наслідків у випадку порушення графіка прийому ліків. Крім того, прийом пролонгованих форм лікарських засобів зменшує час, що витрачається на процедури (замість 4–5 прийомів або ін'єкцій – одна) [3; 4].

Тому останнім часом надзвичайний інтерес викликає створення нових багатофункціональних матеріалів медичного призначення, насамперед здатних до програмованого, пролонгованого та адресного вивільнення інкорпорованих лікарських засобів. Найперспективнішими вважаються полімери, здатні реагувати на незначні зміни в оточуючому їх середовищі. Утім, гідрогелеві носії з такими характеристиками лише починають займати свою нішу в медицині. Особливий інтерес становлять рН-чутливі гідрогелі завдяки здатності перебувати у набряклому або сколапсованому стані за різних рН середовища. З точки зору практичного застосування можливі два шляхи використання рН-чутливих гідрогелів. У першому випадку, наприклад, при лікуванні ран на поверхню рани наносять висушений порошок гідрогелю, що містить ліки. У другому – їх застосовують перорально. Головною особливістю є можливість контролю полімерною матрицею, яка регулює швидкість виділення лікарського препарату і, крім того, може забезпечити керувану доставку

засобу безпосередньо до тієї ділянки організму, яка його потребує. Отже, актуальним є створення сучасних систем носій-препарат медичного призначення, здатних до пролонгованого вивільнення лікарських препаратів і підтримання постійного рівня концентрації ліків в організмі, що дає змогу уникати негативних реакцій внаслідок передозування [5].

Тому метою нашого дослідження був синтез та характеристика гідрогелевих носіїв з точки зору їхньої придатності для інкорпорації лікарських препаратів.

Матеріали та методи

Для синтезу поліакриламідних гідрогелів використали відому систему – мономер акриламід (АА) і зшивальний агент метилен-біс-акриламід (МБА), у присутності ініціюючої окисно-відновної системи персульфату амонію – $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, каталізатор тетраметилетилендіамін (ТМЕДА) та хлорид калію як сильний електроліт. Було синтезовано чотири зразки поліакриламідних матриць, які відрізнялися вмістом/відсутністю каталізатору та компонентів, а також температурою проведення синтезу: зразок № 1 (каталізатор – ТМЕДА (до 3 %), температура 20–25 °С, з KCl); зразок № 2 (каталізатор – ТМЕДА (до 3 %), температура 20–25 °С, без KCl); зразок № 3 (без каталізатора, температура 80 °С, без KCl); зразок № 4 (без каталізатора, температура 80 °С, з KCl).

Для синтезу рН-чутливих гідрогелевих носіїв використовували п'ятипроменеві зіркоподібні олігомери з гуанідиновмісними фрагментами вздовж ланцюга і на його кінцях, оскільки вони мають особливу молекулярну архітектуру, являють собою сильні основи з кінцевими аміногрупами та є чутливими до рН середовища. Для синтезу гуанідиновмісних поліакриламідних гідрогелевих носіїв до суміші складових полімеру до початку синтезу вносили гуанідиновмісний олігомер. Було синтезовано такі гуанідиновмісні гідрогелі: зразок № 5 (каталізатор ТМЕДА (до 3 %), температура 20–25 °С, з KCl), що містить зіркоподібний олігомер; зразок № 6 (без каталізатора, температура 80 °С, з KCl), що містив зіркоподібний олігомер.

Набрякання синтезованих зразків гідрогелевих носіїв здійснювали в універсальному буферному розчині (УБР) [6]. Коефіцієнт набрякання зразків визначали ваговим методом на торсійних вагах.

Коефіцієнт набрякання зразків оючислювали за формулою:

$$\alpha = (m - m_0)/m_0,$$

де m_0 – маса зразка до набрякання, m – маса набряклого зразка.

Моделним фармакопейним засобом, використаним у роботі, був вітамін групи Р венорутинол (ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна). Вивільнення венорутинолу з гідрогелів визначали спектрофотометрично [7] у таких буферних розчинах, як: Na-фосфатний, K-фосфатний, трис-HCl, фізіологічний розчин, забуферений фосфатами (phosphate buffered saline, PBS) та універсальний буфер [6; 8], а також у таких біологічних рідинах, як сироватка великої рогатої худоби («Здоров'я», Україна) і сеча людини.

Результати та обговорення

Основною вимогою до гідрогелів як носіїв лікарських засобів насамперед є їхня здатність до забезпечення пролонгування дії ліків і вивільнення речовини з постійною швидкістю та запрограмованою концентрацією. З огляду на це, у дослідженні вивчали набрякання й вивільнення венорутинолу в умовах, наближених до таких у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) людини. Нормальна кислотність у ШКТ може коливатися у широких межах, наприклад, від рН 1,5–2,0 (у просвіті тіла шлунку натщесерце) до рН 5,6–7,9 (у цибуліні дванадцятипалої кишки); кислотність соку тонкої кишки становить рН 7,2–7,5, хоча при посиленні секреції може сягати рН 8,6, а кислотність соку товстої кишки – рН 8,5–9,0 [8]. Зважаючи на такі відмінності значень рН у різних відділах ШКТ, у роботі використовували рН у діапазоні від 1,0–9,0. Дослідження за значень рН > 9,0 не проводили, оскільки відомо, що поліакриламідні гідрогелі зазнають гідролітичної деструкції з утворенням фрагментів поліакрилату натрію за рН вище 10,0 [4].

На першому етапі роботи визначали коефіцієнт набрякання гідрогелевих матриць, що відрізнялися між собою умовами синтезу. Було показано, що зразки, синтезовані за кімнатної температури у присутності хлориду калію набрякали краще порівняно зі зразками, синтезованими за відсутності KCl (рис. 1). Встановлено також, що високі температури синтезу і відсутність каталізатора покращують здатність гідрогелю до набрякання. Натомість відсутність сильного електроліту під час синтезу гідрогелевих матриць значно знижувала коефіцієнт їхнього набрякання. Враховуючи отримані результати (рис. 1), для подальших досліджень було обрано зразки гідрогелевих матриць 1 та 3.

На наступному етапі було синтезовано рН-чутливі гідрогелеві носії із використанням гуанідиновмісного олігомеру за таких умов синтезу: каталізатор, температура 20–25 °С, з KCl та зіркоподібний олігомер (зразок № 5) і без каталізатора, температура 80 °С, з KCl та зіркоподібний олігомер (зразок № 6).

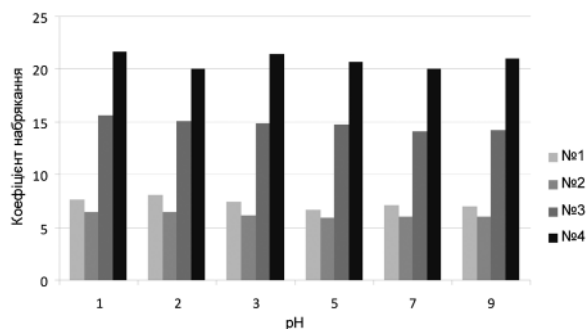


Рис. 1. Залежність коефіцієнта набрякання поліакриламідних гідрогелевих матриць від рН середовища та умов синтезу

Дослідження коефіцієнта набрякання отриманих зразків у діапазоні рН від 1,0 до 9,0 із застосуванням універсального буферного розчину допомогло з'ясувати, що найвищий ступінь набрякання гідрогелів із зіркоподібними гуанідиновмісними олігомерами спостерігається за рН 2,0, а найменший – від рН 5,0–7,0. Отже, отримані результати засвідчують, що введення до складу гідрогелевих матриць гуанідиновмісного олігомеру, з одного боку, зменшувало коефіцієнт набрякання, а з іншого – отримані гідрогелеві носії набували здатності реагувати на зміну рН середовища (рис. 2).

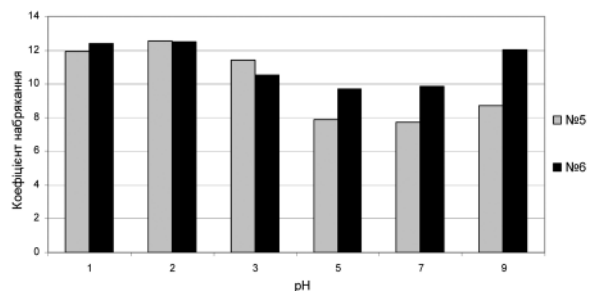


Рис. 2. Залежність коефіцієнта набрякання поліакриламідних гідрогелевих носіїв із гуанідиновмісним олігомером від рН розчину набрякання (УБР) та умов синтезу (зразки № 5 та № 6)

З огляду на те, що синтезовані гідрогелі у подальшому планується застосовувати як носії для створення систем керованої доставки лікарських засобів, для дослідження було обрано середовища вивільнення зі значеннями рН, максимально наближеними до таких організму людини [9], зокрема за вмістом йонів, йонною силою середовища, вміст білків та ін.

Для з'ясування можливого впливу йонної сили середовища на динаміку вивільнення лікарських засобів (ЛЗ) спочатку вивчали зазначену характеристику на прикладі венорутинолу у буферних розчинах, що відрізнялися між собою за вмістом йонів і йонною силою за фізіологічного значення рН 7,4. Зокрема, Na-фосфатний та K-фосфатний буферні розчини характеризувались високим вмістом йонів Na^+ і K^+ , тоді як універсальному і трис-HCl буферним розчинам

був притаманний найнижчий вміст йонів металів. Використання PBS передусім було зумовлено тим, що його осмотичний тиск збігався з осмотичним тиском клітин людини. Було показано, що динаміка вивільнення венорутинуолу у згаданих буферних розчинах підпорядковувалась єдиній залежності. За досліджених умов вивільнення тривало протягом 72 год. Найактивніше вивільнення венорутинуолу відбувалося упродовж перших 5 год., після чого спостерігалась фаза насичення (рис. 3). Крім того, було встановлено, що йонний склад середовища також може впливати на кількість лікарського засобу, що надходить у середовище вивільнення. Зокрема, за умов застосування УБР концентрація венорутинуолу практично удвічі (~ 120 мкг/мл) перевищувала цей показник для інших буферних розчинів (рис. 3).

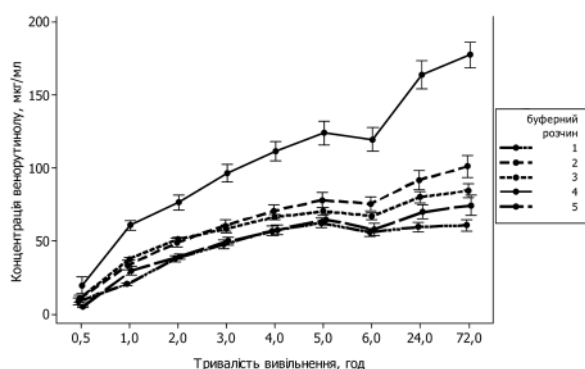


Рис. 3. Залежність вивільнення венорутинуолу від складу буферного розчину (рН 7,4): 1 – Na-фосфатний буферний розчин; 2 – K-фосфатний буферний розчин; 3 – трис-НСІ буферний розчин; 4 – УБР; 5 – PBS

Для того, щоб наблизити середовище вивільнення венорутинуолу до умов макроорганізму надалі досліджували вивільнення цього препарату у біологічних рідинах. Як модельні біологічні рідини використовували сечу людини (рН 5,8) та сироватку крові великої рогатої худоби (рН 7,7), які відрізняються між собою низкою характеристик, основними з яких є вміст білків у сироватці крові та значення рН. Унаслідок проведених досліджень з'ясовано, що вивільненню венорутинуолу у сечі та сироватці крові притаманні певні особливості, а саме – були зафіксовані відмінності у характері вивільнення лікарського засобу та його концентрації залежно від середовища вивільнення (рис. 4). Вивільнення венорутинуолу у сироватці крові великої рогатої худоби та підвищення його концентрації мало лінійніший характер порівняно із тим, як це відбувалося у сечі. Так, після 6 год. вивільнення максимальна концентрація венорутинуолу у сечі не перевищувала 20 мкг/мл, тоді як у сироватці крові цей показник становив 50 мкг/мл. У сечі людини порівняно з сироваткою крові міститься значно менше білків, а значення рН є найнижчим серед усіх досліджених рідин (рН 5,8). Показано, що характер вивільнення венорутинуолу у сечі нагадував залежність, яку раніше спостерігали при вивільненні з застосуванням досліджених буферних розчинів. Хоча концентрація венорутинуолу, вивільненого у середовище, була нижчою майже удвічі. Виявлену залежність насамперед ми пов'язуємо з рН-чутливістю досліджених гідрогелів.

Таким чином, дослідження ступеня набрякання та динаміки вивільнення венорутинуолу у буферних розчинах різного складу, сироватці крові великої рогатої худоби та сечі показало, що за досліджених умов синтезовані гідрогелі виявили здатність активно вивільняти венорутинуол упродовж перших 5 год.

Таким чином, дослідження ступеня набрякання та динаміки вивільнення венорутинуолу у буферних розчинах різного складу, сироватці крові великої рогатої худоби та сечі показало, що за досліджених умов синтезовані гідрогелі виявили здатність активно вивільняти венорутинуол упродовж перших 5 год.

Висновки

Отже, розроблено методику синтезу поліакриламідних гідрогелів із використанням гуанідиномісного олігомеру і встановлено, що його введення надає їм рН-чутливості. Досліджено кінетику вивільнення венорутинуолу за різних умов оточуючого середовища та показано, що його інкорпорація у гідрогелеві носії подовжувала час вивільнення на 72 год. Результати дослідження є важливим підґрунтям для подальшого створення рН-чутливих гідрогелевих носіїв, що можуть бути використані для цілеспрямованої доставки ліків та регульованої кінетики їхнього вивільнення.

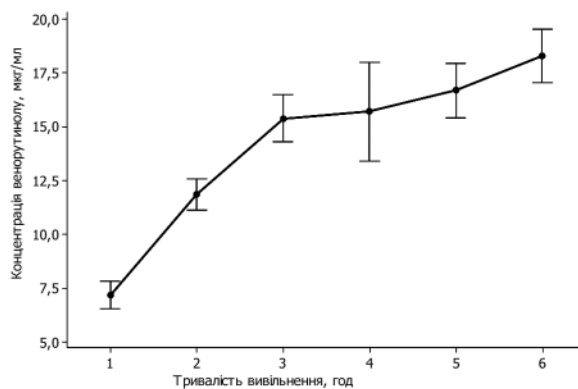
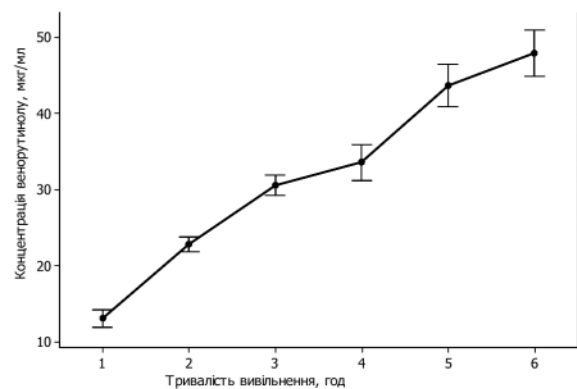


Рис. 4. Вивільнення венорутинуолу у сироватці крові великої рогатої худоби (а) та сечі людини (б)

Література

1. Balamuralidhara V. pH Sensitive Drug Delivery Systems : A Review / V. Balamuralidhara, T. M. Pramodkumar, N. Srujana, et al. // American Journal of Drug Discovery and Development. – 2011. – Vol. 1. – P. 24–48.
2. Jain K. K. Drug Delivery Systems – An Overview / K. K. Jain // Methods in Molecular Biology. – 2008. – Vol. 437. – P. 1–50.
3. Коржавых Э. А. Лекарственные формы с модифицированным высвобождением и действием / Э. А. Коржавых, А. С. Румянцев // Российские аптеки. – 2003. – № 4. – С. 29–34.
4. Park K. Biomedical Applications of Hydrogels Handbook / K. Park. – New York : Springer, 2010. – 432 p.
5. Qiu Y. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery / Y. Qiu, K. Park // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2001. – Vol. 53, № 2. – P. 321–339.
6. Получение и свойства рН-чувствительных наноструктурированных полиэлектролитных микрочастиц с инсулином / Н. Г. Балабушевич, Г. А. Вихорева, Е. В. Михальчик, Н. И. Ларионова // Вестник Московского Университета. – 2010. – Т. 53, № 3. – С. 178–184.
7. Rutin in buckwheat herbs grown at different UV-B radiation levels: comparison of two UV spectrophotometric and an HPLC method / S. Kreft, B. Štrukelj, A. Gaberščik, I. Kreft // Journal of Experimental Botany. – 2002. – Vol. 53, № 375. – P. 1801–1804.
8. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Элиот, У. Элиот, К. Джонс ; пер. с англ. – М. : Мир, 1991. – 544 с.
9. Покровский В. М. Физиология человека / В. М. Покровский, Г. Ф. Коротько. – М. : Медицина. – 1997. – Т. 2. – 368 с.

P. Vakuliuk, I. Furtat, M. Vortman, A. Sheremet, K. Bondarenko, A. Burban, V. Shevchenko

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF pH-SENSITIVE HYDROGEL AS MATRICES FOR INCORPORATION OF MEDICATIONS

We have developed a method for synthesis of polyacrylamide hydrogels using guanidine oligomers, which allowed for acquiring pH sensitivity. The kinetics of release of venorutynol were studied under different conditions. This resulted in establishing a fact that incorporation of venorutynol in the hydrogel medium lengthened the time of release up to 72 hours. The study is an important foundation for the further creation of pH-sensitive hydrogel carriers that can be used for targeted drug delivery and controlled kinetics of release.

Keywords: pH-sensitive hydrogel, guanidine oligomers, controlled kinetics of release.

Матеріал надійшов 23.05.2012