

تحضير تراكيب شبكية بوليمرية ودراسة إطلاقها المتوازن لعقار الكليبيزاييد المستخدم لعلاج مرض السكري

أوراس عدنان حاتم

قسم الكيمياء/ كلية العلوم /جامعة القادسية

الخلاصة:-

استخدمت في هذه الدراسة أقرص الكليبيزاييد التجارية المتوفرة في الصيدليات وتم فصل مادة الكليبيزاييد وتنقيتها وقياس درجة انصهارها وتعيين λ_{max} لغرض التأكد من نقاوة المادة المستخدمة، تم تحضير هلاميات الجيلاتين وبولي فنانيل الكحول وحضرت في هذه الدراسة عدة اقراص على شكل أنظمة شبكية بوليمرية من هلاميات الجيلاتين -بولي فنانيل الكحول المحملة بدواء الكليبيزاييد وبنسب تحميل (25%, 35%, 50%). تم دراسة تأثير الدالة الحامضية على نسب الدواء المتحرر من شبكية الهلام في محلول، (PBS, pH=7.4), SGF, SIF, إذ أعطت النماذج نسب تحرر أعلى للكليبيزاييد عند القيم الواطنة للدالة الحامضية كذلك أظهرت إن زيادة نسبة تحميل الدواء النظرية تؤدي إلى زيادة تحرر الدواء من الشبكية البوليمرية عند دالة حامضية ودرجة حرارة ثابتتين، كذلك فقد تم إجراء اختبار السمية الحاد قصير الأمد للمواد البوليمرية المحضرة ثم درس سلوك الانتفاخ للنماذج المحضرة حيث أظهرت النتائج ازدياد نسب الانتفاخ في القيم الواطنة للدالة الحامضية

المقدمة :-

تم استخدام البوليمرات لأول مرة في التطبيقات الطبية عام 1960 (1) فقد استخدمت بوليمرات هيدروكسي اثيل ميثاكريليت كماد زرعية في تصنيع العدسات اللاصقة الرقيقة كما استخدمت كناقلات تقوم بتوزيع الادوية في كل من المعالجة الموقعية local treatment او التأثيرات الشاملة systemic effects (2). لقد تم اكتشاف العديد من الطرق المختلفة لتجريب الدواء مثل التوزيع الجلدي coetaneous delivery وتحت الجلدي subcutaneous delivery (3)، التوزيع الوجيه Buccal delivery (4)، التوزيع الى الانف nasal drugs delivery (5)، التوزيع الى الجيب المحيط بالسن delivery to the periodontal pocket (6)، المريء Esophagus (7)، المعدة Stomach (8) و القولون colon (9)و المستقيم Rectum (10).

يحدث نظام تحرير الدواء المسيطر عليه عندما يتحد البوليمر سواء الطبيعي او المحضر مع الدواء او أي عامل فعال بطريقة بحيث ان العامل الفعال يتحرر من المادة بطريقة مخطط لها من قبل. اطلاق العامل الفعال قد يكون ثابتا على مدة طويلة وقد يكون دوري على مدد طويلة، او قد يطلق بواسطة البيئة او تغيير الظروف الخارجية الاخرى. في أي حالة، الغرض من السيطرة على توزيع العقاقير هو ان نحصل على علاج اكثر فعالية بينما يقلل من احتمالية كل من الجرعة غير المؤثرة under dosing والجرعة المفرطة over dosing (11)، من الفوائد الاخرى لاستعمال أنظمة اطلاق الدواء المسيطر عليها الابقاء على مستويات الدواء ضمن المدى المرغوب desired range والحاجة الى اعطاء الدواء بعدد جرعات اقل، والاستعمال المثالي للدواء الذي نحن بصددده (12)

في السنوات الاخيرة ركز البحث العلمي على أنظمة البوليمر القابل للتحلل البيولوجي Biodegradable polymer system. هذه الأنظمة تتحلل الى مركبات مقبولة حيويًا. وتتحطم في اغلب الاحيان بواسطة التميؤ hydrolysis وتترك العلاج المتحد ورائها.

عملية التحلل في اغلب الاحيان تحول البوليمر الى lactic acid او glycolic acid وتختزل هذه الحوامض بواسطة دورة كريب (13) Kreb's cycle

يمكن ان ينجز الاطلاق المسيطر عليه للادوية في الانظمة الفموية باستخدام انظمة الشبيكة matrix system الذي يكون فيه الدواء موزعا بانتظام في الشبيكة البوليمرية الخاملة او انظمة الخزان Reservoir systems التي يكون فيها الدواء في المركز ومحاط بغلاف بوليمري(14)

المواد وطرائق العمل:-

* عقار الكليبيزايد Glipizide

N-(4-[*N*-(cyclohexylcarbonyl)sulfamoyl]phenethyl

-5-methylpyrazine-2-carboxamide

من الأدوية المستخدمة لعلاج مرض السكري ينتمي لمجموعة السلفونيل يوريا sulfonyl urea ويعمل هذا الدواء من خلال غلق قنوات البوتاسيوم في خلايا بيتا beta cells في جزر لانكرهانز مما يؤدي الى إطالة الفترة التي تستغرقها الخلايا في تحرير الكالسيوم مما يؤدي الى زيادة في مستوى الكالسيوم وهذا بدوره يؤدي الى تحفيز إطلاق الانسولين من كل خلايا بيتا. (15)

* Sodium ،(Fluka Co.) Glyceraldehyde ،(Aldrich Co.)PVA ،(B.D.H.Co.) Gelatin ، Potassium Phosphate ،(Fluka Co. NaCL, NaOH ،(B.D.H.Co.)HCL،(Merck Co.)Azide, (Fluka Co.)Monobasic

Distilled water and Normal Saline,

1.فصل وتنقية مادة الكليبيزايد Glipizid

تم استخدام اقراص الكليبيزايد المتوفرة في الصيدليات اذ تم فصل وتنقية مادة الكليبيزايد باستخدام عدد من المذيبات Propanol (Acetone, distilled water) (20) بعدها جففت المادة الناتجة باستخدام فرن بدرجة 100±5

2.تحضير هلاميات PVA-Gelatin

في قنينة حجمية سعة 200مل اذيب 2.5غم من الجيلاتين في 100مل من محلول 10%بولي فنايل الكحول بعد ذلك اضيف 0.05ml من حامض الهيدروكلوريك المركز ووضع المزيج على جهاز الرج في درجة حرارة 70c وسرعة رج 100±5rpm لمدة نصف ساعة للتأكد من حدوث تفاعل الاسترة بين PVA و Gelatin (16) البوليمر المتكون تم استخراجه من القنينة الحجمية وغسله بالماء المقطر للتخلص من بقايا حامض HCl

3.تحضير اقراص PVA-Gelatin المحملة بعقار الكليبيزايد Glipizid

اضيفت كميات مختلفة من الدواء الى محلول البوليمر لاعطاء نسب تحميل drug loading rate للكليبيزايد W/W (25%,35%,50%) ،بعدها اضيف 0.04% W/W من العامل المشابك Glyceraldehyde لكل محلول وترك بدرجة حرارة 90c لمدة ساعة واحدة مع التحريك المستمر بواسطة المحرك الميكانيكي ثم جفف بدرجة حرارة 120c باستخدام الفرن لمدة ساعة واحدة (17) ولتمييز العينات سميت حسب نسب التحميل G1,G2,G3

تم تحضير اقراص ال matrix للدواء المحمل على الهلام بواسطة عملية القولية بالضغط (Compression Molding) (18) للخليط الذي يكون الدواء فيه بشكل ذائب (Dissolved Drug) في بدء عملية تحضير ال matrix اذ وضعت كمية محددة من المزيج في فرن في درجة حرارة 120c لمدة 120min ثم كبست العينة على شكل اقراص بابعاد 11*8 mm بواسطة الضغط الشديد بقوة 10tons باستخدام جهاز الكبس (19)

4. تحضير سائل المعدة الافتراضي SGF وسائل الامعاء الافتراضي SIF

حضر سائل المعدة الافتراضي (Simulated Gastric Fluid) وسائل الامعاء الافتراضي (Simulated Intestinal Fluid) حسب ماورد في موسوعة الادوية الامريكية (20) بعدم اضافة الانزيمات الهضمية ،حضر سائل المعدة الافتراضي SGF باذابة 2g sodium chloride في 500ml من الماء المقطر بعدها تم اضافة 10ml hydrochloric acid الى المحلول السابق وخفف الى 1000ml من الماء المقطر

حضر سائل الامعاء الافتراضي باذابة 6.8 g potassium phosphate monobasic في 250ml من الماء المقطر ،بعدها تم مزجه مع Sodium Hydroxide Solution (0.2M) 190ml و 400ml من الماء المقطر ومن ثم ضبط الدالة الحامضية باستخدام Sodium Hydroxide Solution(0.2M) وتخفيف المحلول الناتج بالماء المقطر الى 1000ml

5. دراسة الاطلاق البطيء للكليبيزيد من شبكة البوليمر الهلامية خارج الجسم الحي

In Vitro Slow Release Study of Glipizid from the Hydrogel Matrix

تم قياس نسبة الكليبيزيد المتحرر من النماذج المحضرة اذ استخدم اكثر من نموذج للعينة الواحدة لتجنب الخطأ. وضعت هذه النماذج في 50ml من المحلول المنظم

(Phosphate buffered saline solution) (PBS, pH=7.4) و اضيف 0.03% w/w sodium azide لمنع النمو البكتيري

وضعت جميع النماذج في قناني حجمية مغلقة ومعتمة ووضعت هذه القناني في جهاز الرج بسرعة 160rpm وقيس تركيز الكليبيزيد عند طول موجي 276nm باستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية

6. دراسة نسب الانتفاخ للتركييب المحضرة

(Swelling Ratio Study for preparation tablets)

درست حساسية التراكيب المحضرة للدالة الحامضية بقياس نسب انتفاخها في كل من محلول (PBS, PH=7.4) وسائل المعدة الافتراضي وسائل الامعاء الافتراضي حيث وضعت اقراص من النماذج المحضرة بوزن 2.5g في 50ml من كل من المحاليل السابقة عند درجة حرارة 37 °C وخلال اوقات مختلفة رفعت النماذج ووضعت على ورقة ترشيح للتخلص من السائل الزائد وحسبت نسبة الانتفاخ حسب المعادلة التالية(21) :

$$Q = \frac{W_s - W_d}{W_d}$$

اذ تمثل Q نسبة الانتفاخ و W_s يمثل وزن الهلام المنتفخ و W_d يمثل وزن الهلام الجاف وحسبت نسبة الانتفاخ خلال 8 ساعات

7. اختبار السمية الحاد قصير الامد (Acute Toxicity)

اختبرت السمية الحادة للشبيكة البوليمرية بالاعتماد على المصدر (21) استخدم في هذا الاختبار 20 فأرا مختبريا سلالة (Balb/c mice) تراوحت اوزانها بين 20-25g قسمت عشوائيا الى 4 مجاميع كل مجموعة مكونة من 5 فئران اعطيت احدى المجاميع 1ml من محلول Normal saline عن طريق التجريع الفموي باستخدام انبوبة معوية خاصة Stomach tube و عدت هذه المجموعة مجموعة مسيطرة control

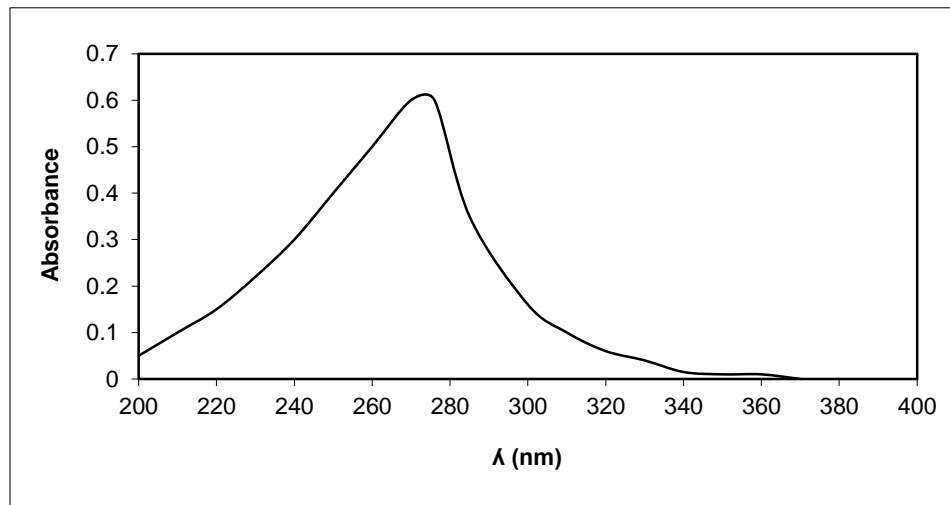
بينما اعطيت بالطريقة نفسها جرعة 16غم/كغم من البوليمرات G-1 , G-2 , G-3 للمجاميع الثلاث المتبقية، تم مراقبة الحيوانات لمدة 72 ساعة لتسجيل البيانات حول الوفيات الحاصلة

Results & Discussion المناقشة

1.3 فصل وتنقية مادة الكليبيزاييد:

لغرض التأكد من نقاوة الكليبيزاييد تم قياس درجة الانصهار بعد التجفيف ومانت ضمن المدى 208-209م وهذا يدل على ان المادة نقية وخالية من الشوائب اذ انه يتفق مع مامنشور في العديد من الادبيات (22)

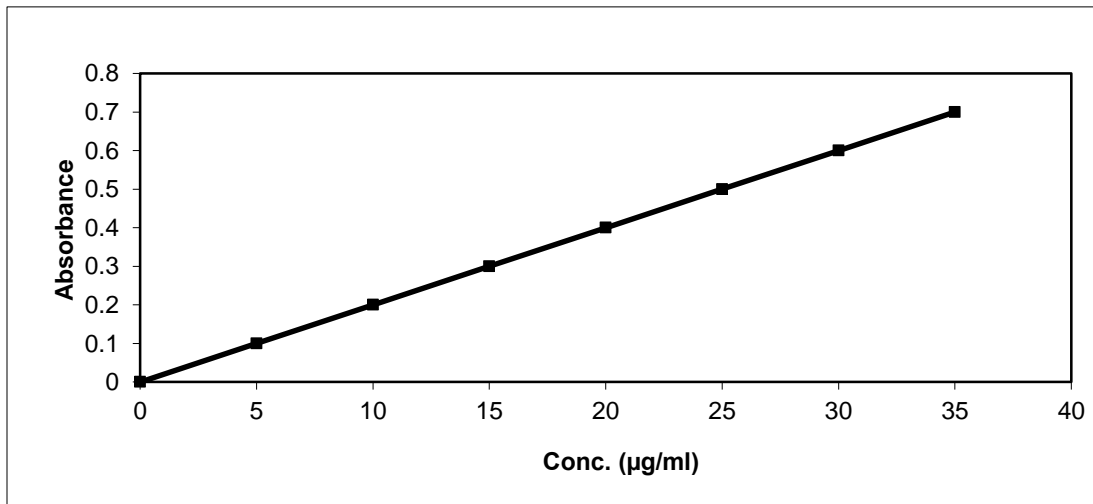
كذلك تم تعيين λ_{max} للكليبيزاييد المنقى اذ اظهرت قمة في الطول الموجي 276nm (20)



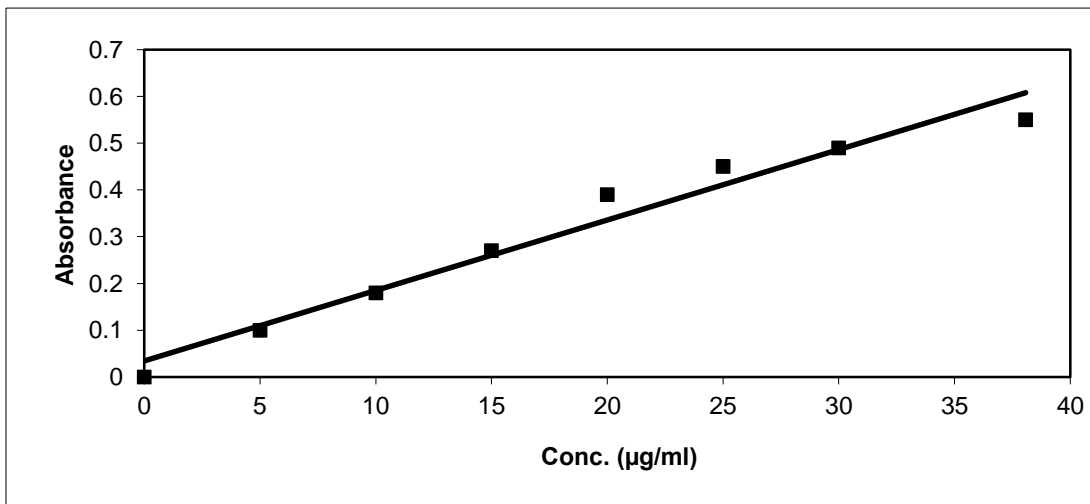
طيف الاشعة فوق البنفسجية للكليبيزاييد النقي

2.3 دراسة الاطلاق البطيء للكليبيزاييد من شبكة البوليمر الهلامية خارج الجسم الحي In Vitro Slow Release Study of Glipizide from the Hydrogel Matrix

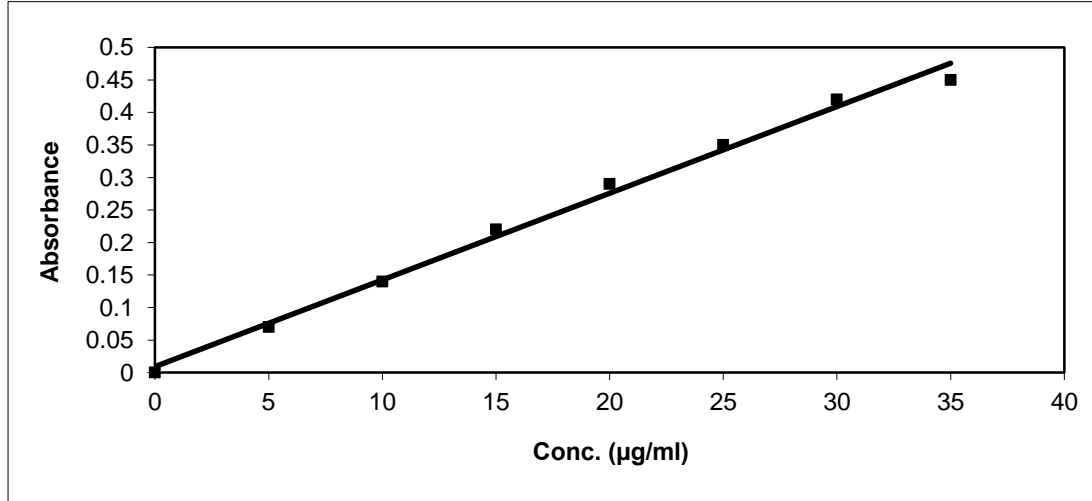
تم تعيين تركيز الكليبيزاييد خلال فترات زمنية مختلفة (8 ساعات) من الخط المستقيم الناتج من رسم الامتصاصية مقابل التركيز في منحنى المعايرة تبعا لقانون بير - لامبرت. نسبة التحرر الكليبيزاييد من النماذج تم متابعتها في كل من المحلول المنظم (PBS, PH=7.4) وفي SGF, SIF عند درجة حرارة ثابتة 37م



منحني المعايرة القياسية للكلبيزيد في محلول (PBS, PH=7.4) وطول موجي (276nm)



منحني المعايرة القياسية للكلبيزيد في محلول (SIF) وطول موجي (276nm)



منحني المعايرة القياسية للكليبيزايدي في محلول (SGF) وطول موجي (276nm)

3.3 دراسة تأثير الدالة الحامضية على نسبة تحرر الكليبيزايدي من شبكية البوليمر

درس تأثير الدالة الحامضية على نسب تحرر الكليبيزايدي من النماذج G1, G2, G3 في محلول (PBS, PH=7.4) و SGF, SIF الجدول (3-1) يظهر ان للدالة الحامضية تأثير كبير على معدل تحرر الكليبيزايدي من شبكية الهلام اذ اعطت النماذج نسب تحرر اعلى عند القيم الواطئة للدالة الحامضية (محلول SGF, SIF) مقارنة مع قيمتها في محلول (PBS, PH=7.4) وهذا يرجع الى قدرة هلاميات الجيلاتين على تكوين الايونات الموجبة NH_3^+ في المحاليل الحامضية التي تؤدي الى زيادة التناصر مع الماء عن طريق تكوين الاواصر الهيدروجينية وبالمقابل سوف يزداد الماء الممتص من قبل شبكية الهلام (23)

Sample	%Gummulative Glipizide Released		
	PH =7.4	SIF	SGF
G1	67	73.8	77.2
G2	75	85.23	92.45
G3	93	95.55	99.16

في النماذج G1 G2 G3 تم مزج البوليمر والدواء المستخدم ليشكلا نظاما متجانسا يدعى Matrix system بحيث الانتشار في هذا النظام عندما يمر الدواء من خلال شبكية الهلام المنتفخ الى البيئة الخارجية عن طريق الية الانتفاخ الذي يتبعه الانتشار، (swelling followed by diffusion) كما لوحظ من النتائج اعلاه ان معدل تحرر الدواء من الشبكية الهلامية يزداد بازدياد نسبة تحميل الدواء النظرية (Theoretical Drug Loading Rate) عند دالة حامضية ودرجة حرارة ثابتة وهذا يتفق مع ماهو منشور (17)،

ان النماذج المحضرة تتحلل من خلال ميكانيكية التآكل الكتلي Bulk Eroding حيث ان النظام البوليمري المحضر في هذه الدراسة هو نظام متميؤ وليس متصلباً ويتوقع ان يتحكم بواسطة الحركة الدودية للمنطقة المعوية، المكونات الخاملة بايولوجيا لقرص الدواء قد تبقى من حين لآخر سليمة اثناء عبورها خلال المنطقة المعوية وسوف تزال مع فضلات الجسم الصلبة (24)

4.3 اختبار السمية الحاد قصير الامد (Acute Toxicity)

اظهرت نتائج تجريب الفئران بتركيز 16 غم/كغم من البوليمرات G1 G2 G3 عدم وجود اي وفيات في جميع الفئران المعاملة فضلا عن فئران السيطرة، كما ان سلوكها كان طبيعياً مقارنة مع فئران السيطرة على مدى ثلاثة ايام من المراقبة، مما يدل على ان المواد عديمة السمية بالاعتماد على مخطط تصنيف السمية الذي عد المادة غير سامة في حالة حدوث وفيات في الحيوانات الجرعة بتركيز (< 15 غم/كغم) (21) حيث ان هلاميات الجيلاتين والبولي فنابل الكحول المستخدمة في هذه الدراسة هي مواد قابلة للتحلل الحيوي Biodegradable وذات نواتج تحلل غير سامة (22) وهذا ما اثبتته نتائج اختبار السمية لهذه الهلاميات

5.3 دراسة نسب الانتفاخ للتراكيب المحضرة

(Swelling Ratio Study for preparation tablets)

يبين الجدول (2-3) تأثير الدالة الحامضية على نسب الانتفاخ للتراكيب G1 G2 G3 بعد مرور 8 ساعات من وضعها في سوائل (PBS, PH=7.4) و SIF و SGF

Sample	Q		
	PH =7.4	SIF	SGF
G1	2.9	3.63	4.35
G2	3.5	3.82	4.84
G3	4.55	5.08	5.73

6.3 فوائد صيغ الاطلاق البطيء للكليبيزاييد

عند الاخذ بنظر الاعتبار اهمية عقار الكليبيزاييد في العلاج فان مستحضر الاطلاق المستمر سيقدم فوائد عدة مثل تخفيض عدد الجرعات في اليوم الواحد وتقليل التقلبات اليومية في مستوى الكليبيزاييد مع الاخذ بنظر الاعتبار ان المكون الفعال في كل من صيغ الاطلاق المباشر والاطلاق طويل الامد هو نفسه ولكن الفرق في معدل الامتصاص والذي يسيطر عليه بواسطة نسبة العامل العلاجي الذي يطلق من القرص الدوائي للانظمة طويلة الامد (25)

References:-

1. , J.L. West, S.R. Sershen , N.J. Halas, S.J. Oledenburg, & R.D. Averitt (2002) , Us patent 6,428,811.
2. N.Vaya, R.S. Karan, S.S. Madkarni, & V.K. Gupta, (2004). U.S. Patent 20040096501.
3. T.C. Pinkerton , (2004). U.S. patent 20040073160 .

4. M. Kitano, Y. Maitani, K. Takayama, & T. Nagi, (1998). Int .J.Pharma.174, 19-28.
5. C. Wadell, (2002). PhD. Thesis , University of Uppsala, Sweden .
6. D.S. Jones, A.D. Woolfson , A.F. Brown , W.A. Coulter, C. McClelland , & C.R. Irwin ,(2000). J .control release 67, 357-368.
7. J. Bourre, S.Thibaut, A. Briffaud, Y. Lajat, & T. Patrice, (2002), Pharm. Research 45, 159-165.
8. A.M. Lowman , M. Morishita, M. Kajita, T. Nagi, & N.A. Peppas ,(1999), J.Pharm. Sci. 88, 933-937.
9. J.Kopecek, P.Kopceva, H.Brondsted, R.Rathi, B.Rihova, P.Y.Yeh, & K. Ikesue ,(1992), J.control release 19, 121-130.
10. S. Miyazaki, F. Suisha, N.Kawasaki, M.Shirakawa, K.Yamatoya, & D. Attwood, (1998), J.control release. 56, 75-83.
11. Y.Lu, & S.C. Chen, (2004), Adv.Drug Deliv.Rev., 56, Issue 11, 1621-1633.
12. H.Hagerstrom, (2003), Ph.D. Thesis , University of Uppsala, Sweden .
13. L.B. Peppas, November 1997, " Polymeras in controlled drug delivery." Medical plastics and Biomaterials..available online : www.deviceink.com.
14. M.G. Durate, D.Brunel, M.H. Gill, & E. Schachat ,(1997), J.Mat.Sci., 8, 321.
15. P.N. Bennett, & M.J. Brown (2003), : Clinical pharmacology. 9th ed. Churchill Livingstone : 688-689.
16. K.Pal, A.K.Banthia, D.K.Majumdar, (2006), poly vinyl alcohol-gelatin patches of salicylic acid : preparation , characterization and drug release studies. J Biomater Appl ; 21:75
17. R. Dinarvand, S.H.Moghadam, L.Mohammadyari-Fard & F.Atyabi, (2003), AAPS Pharm.Sci.Tech. 4(3), Article 34.
18. Nursing 97, (1997), "Drug Hand book" . Springhouse Corporation , Pennsylvania.
19. M.Emad, (2005), M.S.C thesis , university of Basrah, Iraq.
20. US Pharmacopoeia USP 23/NF18. (1995), United states Pharmacopoeial Convention, Rockville, MD, USA.
21. C.D.Klaassen, & J.Doull. "Evaluation of Safety Toxicologic evaluation". 2nd Ed. Macmillan Publishing Co., Inc., New York.
22. www.drugbank.ca/drugs/DB01067

23. T.Jahns, H.Ewen and H.Kaltwasser,(2003), J.Polym. and Env.,11, No.4.
24. N.A.Peppas and R.Langer,(2003) AlchE Journal,No. 12,49,2990-3006.
25. K.Burugapalli, D. Bhatia, V.Koul and V. Choudhary, (2001),J.Appl.polym.sci.,Vol.82,Issue 1,p.217-227.

Preparation of Polymeric Matrix Structures and Study their Controlled Release of Glipizid (In vitro)

Oraas Adnan Hatem

College of Science/Chemistry Department/ AL-Qadisyaa University

Abstract:

The Glipizide tablets which used in this study was available in the commercial local pharmacies. Glipizid material was isolated and refined, then the meltingpoint and (λ_{max}) were determined. The gelatin and poly vinyl alcohol hydrogels were prepared by chemical crosslinkage using glycerinaldehydes. In this study several tablets were prepared as polymeric matrix systems from gelatin-PVA which loaded by Glipizide in ratio (25%, 34%, 50% wt/wt). The effect of pH on release rate of Glipizide in (PBS, pH=7.4), SGF, and SIF has been studied. The results exhibit that the pH have a great effect on releaserate of Glipizide from polymeric matrix, so the samples gave a high release rate in low values of pH (SGF & SIF) in comparison with neutral solution (PBS, pH=7.4). The results also shows that the release rate increase when the drug loading rate increase according to recent research. The study consist on the toxicity of these materials which is shown that these materials are nontoxic. The swelling behavior of prepared samples has been studied and the result show an increase in swelling ratio at low pH value