

Г. С. ТАТЫХАНОВА<sup>1</sup>, М. Г. ЯШКАРОВА<sup>1</sup>, С. Е. КУДАЙБЕРГЕНОВ<sup>1,2</sup>

## ИММОБИЛИЗАЦИЯ РИХЛОКАИНА В МАТРИЦУ pH- И ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ СОПОЛИМЕРОВ N-ИЗОПРОПИЛАКРИЛАМИДА

**Введение.** Иммунизация лекарственных препаратов (ЛП) в матрицу гидрогелей представляет большой научно-практический интерес для нужд медицины с точки зрения создания систем с контролируемым выходом лекарственных препаратов в зависимости от внешних стимулов [1-4]. Одним из эффективных способов создания гидрогель-иммунизированных ЛП является метод *in situ*, т.е. полимеризация смеси мономеров в присутствии сшивающего агента и иммунизируемых ЛП. Авторами [5, 6] изучена адсорбция и контролируемый выход хлортетрациклина [5] и аминофиллина [6] из объема гидрогеля на основе гидроксиэтилметакрилата и метакриловой кислоты, а также N-изопропилакриламида и итаконовой кислоты, соответственно. Показано, что выход лекарственного препарата зависит от pH среды, температуры и содержания ненасыщенных карбоновых кислот в составе сополимеров. Серия работ [7, 8] посвящена иммунизации рихлокаина в гелях поливинилового спирта и полиакриламида. Ранее [9-12] нами исследовано комплексообразование рихлокаина с линейными и сшитыми полимерами и показан контролируемый выход лекарственного препарата из объема гидрогелей. Настоящая статья посвящена поиску путей создания лекарственных «депо» путем внедрения в матрицу pH- и термочувствительных гидрогелей местноанестезирующего препарата – рихлокаина, разработанного казахстанскими учеными [13].

### Экспериментальная часть

В реакционную смесь, состоящую из N-изопропилакриламида (НИПА) (49,5 мг и/или 148,5 мг) 2-акриламидо-2-метилпропансульфоновой кислоты (АМПС) (103,5 мг) (или акриловой кислоты (АК) (0,75 мл) при мольных соотношениях исходных мономеров 1:1 и 3:1, рихлокаина, растворенного предварительно в 2 мл воды, добавляли сшивающий агент – N,N'-метиленабисакриламид (МБАА) (10 мг) и инициатор – персульфат аммония (ПСА) (10 мг). Смесь тщательно перемешивали до полной гомогенизации, помещали

в пластиковую трубку диаметром 1 см и продували инертным газом в течение 2-3 минут и термостатировали при 60°C в течение 30 мин. Полученные цилиндрические образцы периодически промывали дистиллированной водой в течение 1 недели. Степень набухания гидрогелей определяли по формуле  $\alpha = (m - m_0) / m_0$  (где  $m$  и  $m_0$  – массы набухшего и сухого образца). Кинетику набухания гидрогелевых образцов определяли по формуле:  $M_t / M_\infty = kt^n$ , где  $M_t$  – масса жидкости, сорбированной за время  $t$ ;  $M_\infty$  – масса жидкости, сорбированной в равновесно-набухшем состоянии, т.е. при  $t \rightarrow \infty$ ;  $k$  – характеристическая константа гидрогеля;  $n$  – характеристический экспонент, описывающий механизм диффузии жидкости в объем геля [14]. Температуру объемного перехода поли-N-изопропилакриламида (поли-НИПА) и сополимеров НИПА-АМПС и НИПА-АК определяли с помощью оптического микроскопа «Биолам», снабженного термостатируемой ячейкой, путем измерения диаметра образцов при 18-кратном увеличении и различных температурах. Мономеры НИПА, АМПС, АК, сшивающий агент МБАА, инициатор ПСА фирмы «Aldrige» и рихлокаин – коммерческий продукт фирмы «Асфарма» – (Россия) использовали без дополнительной очистки (рис. 1).

### Результаты и обсуждение

Можно предположить, что в условиях *in situ* положительно заряженные молекулы рихлокаина будут удерживаться в объеме гидрогеля за счет комплексообразования с 2-акриламидо-2-метилпропансульфоновой и акриловой кислотами растущей цепи. Об этом свидетельствуют результаты кондуктометрического титрования водных растворов АМПС (или АК) водным раствором рихлокаина. Излом на кривых соответствует образованию эквимолярного комплекса между реагирующими компонентами по схеме 1. Фактически такие «заготовки» вступают в реакцию сополимеризации с НИПА и стабилизируют рихлокаин в объеме гидрогелей. При этом необходимо учесть, что двойные связи рихлокаина не

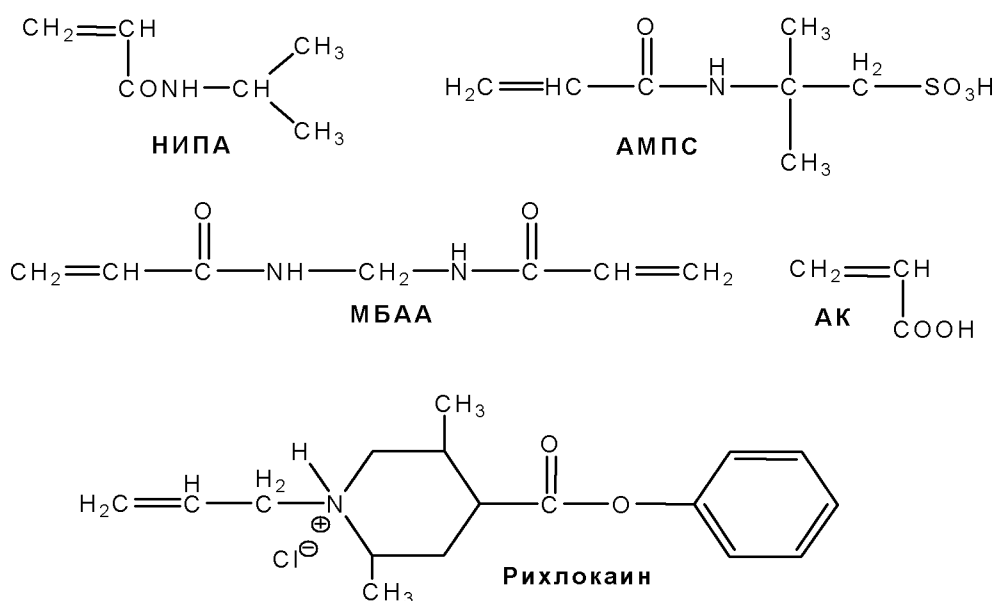


Рис. 1. Структурные формулы использованных веществ для синтеза гель-иммобилизованного рихлокаина

вовлекаются в реакцию полимеризации из-за оттяжки  $\pi$ -электронов  $C=C$  связи положительно заряженными атомами азота.

На рис. 2 показана равновесная динамика набухания гидрогелей НИПА-АМПС различного состава в отсутствие и в присутствии рихлокаина. Значения степени набухания, а также  $n$  и  $k$ , рассчитанные по методике [14], представлены в табл. 1. Согласно [14] при  $n=0,5$  процесс диффузии растворителя внутрь геля подчиняется закону Фика, при  $n>0,5$  происходит аномальный транспорт жидкости, а при  $n=1$  реализуется релаксационно-контролируемый транспорт воды в объем сетки. Значения  $n=1$  для НИПА-АМПС (1:1) и НИПА-АК (3:1) в присутствии рихлокаина указывают на релаксационно-контролируемый тип диф-

фузии растворителя, тогда как значения  $0.5 < n < 1.0$  для остальных систем – на аномальный характер диффузии воды в гидрогелевую матрицу.

Известно [1], что линейный и сшитый поли-НИПА претерпевает объемно-фазовый переход ниже нижней критической температуры растворения (НКТР) в области 32-33 °С. Как видно из рис. 3, значения НКТР, определенные для систем НИПА-АМПС и НИПА-АК, изменяются в следующем порядке: НИПА-АМПС (35 °С) > > НИПА-АК (34,4 °С) > НИПА-АК-рихлокаин (33,8 °С) > поли-НИПА (32,7 °С).

Некоторое возрастание значения НКТР для сополимеров НИПА по сравнению с поли-НИПА в высокотемпературную область связано с состоянием молекул воды, окружающей сегменты

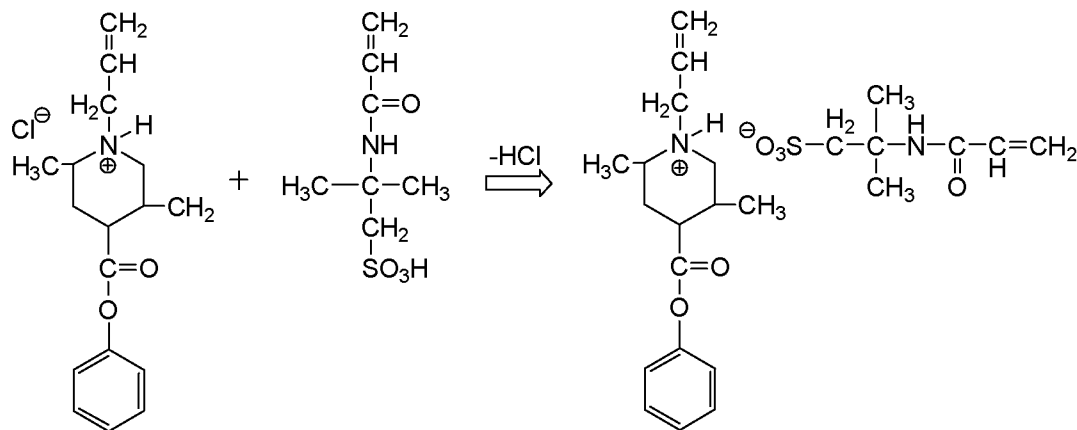
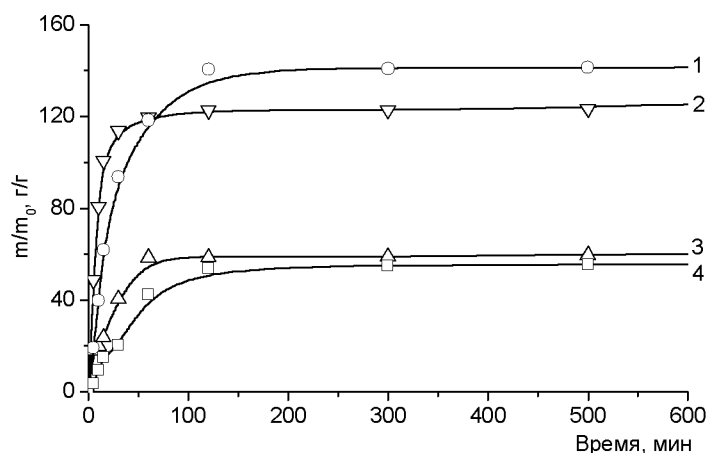


Схема 1. Образование эквимольного комплекса между АМПС и рихлокаином



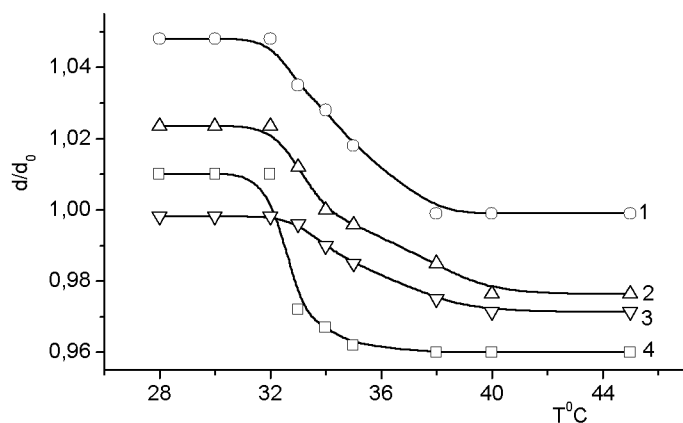
**Рис. 2.** Кинетика набухания гидрогеля НИПА-АМПС (1:1) в присутствии (1) и отсутствие (2) рихлокаина, НИПА-АМПС (3:1) в отсутствие (3) в присутствии (4) рихлокаина

**Таблица 1.** Степень и кинетика набухания гидрогеля НИПА-АМПС и НИПА-АК в воде в присутствии и в отсутствие рихлокаина

| Гидрогель, моль/моль        | Содержание рихлокаина, мл | $\alpha$ , г/г | $n$  | $k \cdot 10^2$ |
|-----------------------------|---------------------------|----------------|------|----------------|
| НИПА-АМПС (1/1)             | 0                         | 120            | 1,01 | 1,4            |
| НИПА-АМПС (1/1) + Рихлокаин | 2                         | 131            | 0,93 | 9,1            |
| НИПА-АМПС (3/1)             | 0                         | 58             | 0,82 | 8,9            |
| НИПА-АМПС (3/1) + Рихлокаин | 2                         | 54             | 0,84 | 2,5            |
| НИПА-АК (3/1)               | 0                         | 12,6           | 0,90 | 2,7            |
| НИПА-АК (3/1) + Рихлокаин   | 2                         | 9,6            | 1,03 | 2,1            |

макромолекул. Согласно Сибаяма [15, 16], в набухом состоянии около цепей поли-НИПА молекулы воды находятся в двух состояниях. Около 10-15 молекул воды, окружающих каждый полимерный сегмент, ответственные за фазовый переход, тогда как от 1 до 3 молекул воды, приходящихся на один полимерный сегмент, может быть рассмотрен как наименьший предел для гид-рофобной гидратации. Иными словами, при  $T < \text{НКТР}$  молекулы воды находятся в ассоциированном и упорядоченном состоянии, а при  $T > \text{НКТР}$  они диссоциируют и существуют в

виде одиночных молекул. Присутствие гидрофильных сомономеров, таких как АМПС и АК затормаживают диссоциацию кластеров воды и соответственно сдвигают температуру фазового перехода в сторону более высоких температур, что и подтверждается экспериментально. Пониженное значение НКТР при иммобилизации рихлокаина в объем гидрогеля НИПА-АК-рихлокаин (33,8 °С), по-видимому, можно объяснить гидрофобизацией системы из-за существования стехиометричного комплекса между АК и рихлокаином.



**Рис. 3.** Изменение диаметра образцов гидрогелей в зависимости от температуры для НИПА-АК (1), НИПА-АК-Рихлокаин (2), НИПА-АМПС (3) и поли-НИПА (4)

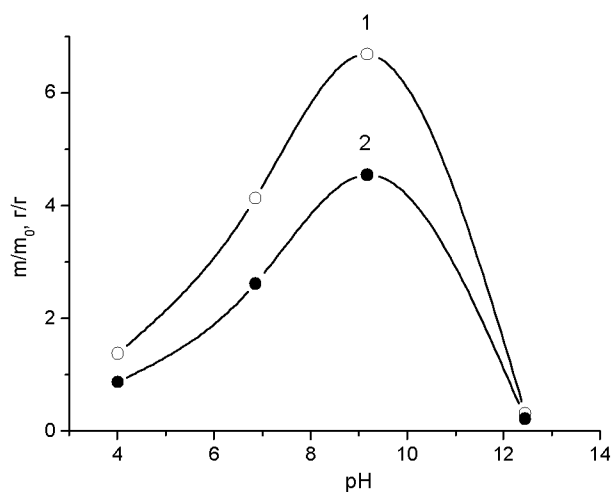


Рис. 4. Влияние pH среды на набухание гидрогелей НИПА-АК в отсутствие (1) и в присутствии рихлокаина (2)

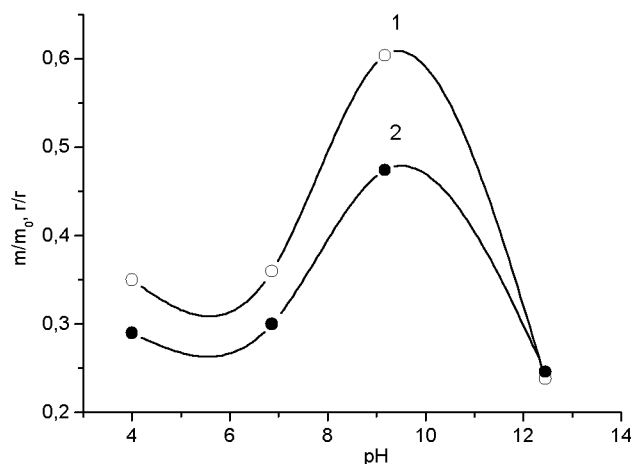


Рис. 5. Влияние pH среды на набухание гидрогелей НИПА-АМПС в отсутствие (1) и в присутствии рихлокаина (2)

Максимальная степень набухания для НИПА-АК и НИПА-АМПС наблюдается в области pH = 9-10, что связано с ионизацией карбоксильных и сульфатных групп гидрогелей (рис. 4, 5). В кислой среде гидрогели коллапсируют в результате подавления ионизации кислотных групп цепи.

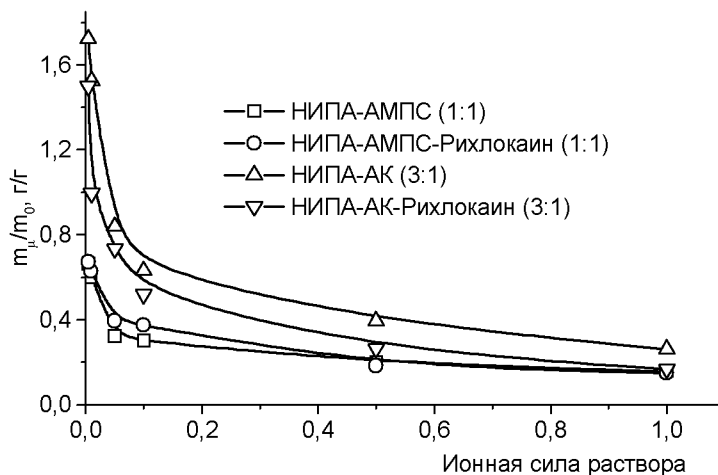
Сжатие гидрогелей с ростом ионной силы раствора связано с экранированием отрицательно заряженных звеньев цепи низкомолекулярными ионами (рис. 6).

Поведение гидрогелей в смеси растворителя вода-этанол характеризуется постепенным сжатием сетки с увеличением доли органического растворителя. Это, по-видимому, связано с ухудшением качества растворителя по отношению к макромолекулярной цепи.

Таким образом, осуществлена иммобилизация рихлокаина в матрицу pH- и термочувстви-

тельных гидрогелей на основе НИПА и кислотных мономеров в условиях *in situ*. Показано, что лекарственный препарат удерживается в объеме геля в результате образования стехиометричного комплекса с кислотными фрагментами цепи. Динамика набухания гидрогелей в воде описывается уравнением Фика и происходит как по релаксационно-контролируемому, так и аномальному механизму. Присутствие ионогенных мономеров в составе сополимеров сдвигает объемно-фазовый переход в более высокотемпературную область, что связано с состоянием молекул воды, окружающих сегменты макромолекул. В результате ионизации карбоксильных и сульфатных групп, максимальная степень набухания для гидрогелей наблюдается в области pH = 9-10. Сжатие гидрогелей с ростом ионной силы раствора объясняется экранированием отрицательно заряженных

Рис. 6. Сжатие гидрогелей в зависимости от ионной силы раствора, создаваемой 0,1 н NaCl



звеньев цепи низкомолекулярными ионами. В смеси вода-этанол обнаружено постепенное сжатие сетки, связанное с ухудшением термодинамического качества растворителя.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Галаев И.Ю. «Умные» полимеры в биотехнологии и медицине // Успехи химии. 1995. Т. 64(5). С. 505-522.
2. Scherlund M., Brodin A., Malmsten M. Micellization and gelation in block copolymer systems containing local anesthetics // Int. J. Pharm. 2000. Т. 211. С. 37-49.
3. Eros I., Csoka I., Csanyi E., Takacs-Wormsdorff T. Examination of Drug Release from Hydrogels // Polym. Adv. Technol. 2003. V. 14. P. 847-853.
4. Kumari K., Kundu P.P. Semiinterpenetrating polymer networks of chitosan and L-alanine for monitoring the release of chlorpheniramine maleate // J. Appl. Polym. Sci. 2007. Т. 103. С. 3751-3757.
5. Abou Taleb M.F., Abdel-Aal S.E., El-Kelesh N.A., Hegazy E.A. Adsorption and controlled release of chlortetracycline HCl by using multifunctional polymeric hydrogels // Eur. Polym. J. 2007. V. 43. P. 468-477.
6. Katime I., Valderruten N., Quintana J.R. Controlled release of aminophylline from poly(N-isopropylacrylamide-co-itaconic acid) hydrogels // Polymer Int. 2001. V. 50. P. 869-874.
7. Бейсебеков М.К., Токтабаева А.К., Жунусбекова Н.М., Абилов Ж.А., Ахмедова Ш.С. Имобилизация рихлокаина на поливинилспиртовых гелях и пленках // Вестник КазНУ. Сер. хим. 2000. № 2(19). 90-95 с.
8. Бейсебеков М.К., Токтабаева А.К., Мусабеков К.Б., Абилов Ж.А. Исследование взаимодействия полиакриламидных гелей с рихлокаином // Вестник КазНУ. Сер. хим. 2002. № 1. С. 75-81.
9. Makysh G.Sh., Bimendina L.A., Kudaibergenov S.E. Interaction of richlocain with some linear and crosslinked polymers // Polymer. 2002. V. 43. P. 4349-4353.
10. Макыш Г.Ш., Бимендина Л.А., Мурзагулова К.Б., Кудайбергенев С.Е. Взаимодействие линейного и сшитого поли-N-винилпирролидона с рихлокаином // Вестник КазНУ. Сер. хим. 2002. №3. С. 161-165.
11. Kudaibergenov S.E., Makysh G.Sh., Bimendina L.A. Immobilization of local anaesthetic drug richlocain onto linear and crosslinked sodium polyacrylate, Proc. IX Intern. BRG Workshop and 62-th ICB Seminar "Bioencapsulation in Biomedical, Biotechnological and Industrial Applications". Warsaw, 2001. S. IY-3.
12. Татыханова Г.С., Яшқарова М.Г., Құдайбергенев С.Е. Жергілікті анестетикті препарат – рихлокаинді акриламид және акрил қышқыл гидрогелінің матрицасына имобилизациялау // Региональный Вестник Востока. Материалы Международной научно-практической конференции «Аман-жолы» (2007): Ч. 7, У-К, 2007, изд. ВКГУ им. С. Аманжолова. С. 114-117.
13. Шарифканов А.Ш., Ахмедова Ш.С., Мурзагулова К.Б., Самарина Г.И., Галенко-Ярошевский П.А. // Патент РК № 1391, 1998.
14. Kim B., Flamme K.L., Peppas N.A. Dynamic swelling behavior of pH-sensitive anionic hydrogels for protein delivery

// J. Appl. Polym. Sci. 2003. V. 89. P. 1606-1613.

15. Shibayama M., Morimoto M., Nomura S. // Macromolecules. 1994. V. 27. P. 5060.

16. Shibayama M., Mizutani S., Nomura S. // Macromolecules. 1996. V. 29. P. 2019.

## Резюме

N-изопропилакриламид (НИПА) және 2-акриламид-2-метилпропансульфонды қышқылына (АМПС) (немесе акрил қышқылына (АҚ) жергілікті анестетик – рихлокаиннің сулы ерітіндісі қатысында және қатысынсыз сополимеризациялау әдісі арқылы рН- және термо-сезімтал қасиеттерге ие монолитті гидрогельді жүйе синтезделді. Дәрілік препараттың гидрогель матрицасына имобилизациялануы ионгенді мономерлер мен рихлокаин арасындағы комплекстің стехиометриялы болуына байланысты. Гидрогель үлгілерінің судағы ісіну дәрежесі мен динамикасы анықталды. Гидрогель көлеміндегі су диффузиясы релаксационды – бақылаулы және аномальды механизм арқылы да жүретіндігі байқалды. Сондай-ақ температураның, рН ортаның, ерітіндінің иондық күші және су – этанол еріткіш құрамының гидрогельдің көлемдік – фазалық қасиетіне әсер етуі зерттелді. НИПА-АМПС және НИПА-АҚ жүйелері үшін төмен дағдарыстық еру температурасының (ТДЕТ) мәні анықталды, олар келесі қатар бойынша өзгереді: НИПА-АМПС (35 °С) > НИПА-АҚ (34,4 °С) > НИПА-АҚ-рихлокаин (33,8 °С) > поли-НИПА (32,7 °С). Соплимерлер жағдайында ТДЕТ жоғары температура аймағында өзгеруін су молекуласының жағдайына байланысты макромолекулары қоршаған сегменттермен түсіндіруге болады.

## Summary

Monolith hydrogels possessing pH- and thermo-responsibility have been synthesized by copolymerization of N-isopropylacrylamide (NIPA) and 2-acrylamido-2-propanesulfonic acid (AMPS) (or acrylic acid (AA) in the presence and absence of richlocain. Formation of stoichiometric complexes between richlocain and ionic monomers is responsible for immobilization of drug within hydrogel matrix. The swelling degree and dynamic swelling behavior of hydrogel samples were determined in water. It was shown that water diffusion into gel volume takes place by either diffusion-controlled or anomalous mechanism. The influence of temperature, pH, ionic strength and water-ethanol mixtures on volume-phase transitions of hydrogels was studied. The values of low critical soluble temperature (LCST) determined for NIPA-AMPS and NIPA-AA are changed in the following order: NIPA-AMPS (35 °C) > NIPA-AA (34.4 °C) > NIPA-AA-Rich-locain (33.8 °C) > poly-NIPA (32.7 °C). Shifting of LCST to higher temperature region in case of copolymers is explained from the point of view of surrounding water molecules the macromolecules segments.

УДК 541.64+678.744

<sup>1</sup>Семипалатинский государственный университет им. Шакарима, г. Семей;

<sup>2</sup>Институт полимерных материалов и технологий, г. Алматы

Поступила 5.10.07г.