

Sorpcija diklofenaka na selektivno oksidovanu celulozu

Pero S. Sailović¹, Branka B. Rodić Grabovac¹, Snežana M. Uletilović²

¹Univerzitet u Banjoj Luci, Tehnološki fakultet, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

²Univerzitet u Banjoj Luci, Medicinski fakultet, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

Izvod

Vezivanje ljekovitih preparata na polimerne nosače određeno je vrstom nosača i strukturom samog lijeka. U ovom radu kao polimerni nosač korištena je selektivno oksidovana celuloza (OC) sa 0,547 i 1,163 mmol/g COOH. Dobijena je oksidacijom celuloznog zavoja smjesom HNO₃-H₃PO₄-NaNO₂ u trajanju od 5 i 10 časova na temperaturi 25±1 °C, i upotrebljena je za vezivanje analgetika diklofenak-kalijuma. Vezivanje lijeka vršeno je iz vodenog rastvora koncentracija $c = 2,5 \cdot 10^{-3}$, $3,4 \cdot 10^{-3}$ i $5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L na temperaturi 26±1 °C, a desorpcija analgetika u fiziološkom rastvoru. Količine vezanog i otpuštenog lijeka određene su spektrofotometrijski na talasnoj dužini od $\lambda_{\max} = 276$ nm. Maksimalna količina vezanog lijeka nakon 24 h iznosila je 0,814 mmol/g OC (iz rastvora $c = 5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L, na uzorku sa 1,163 mmol/g COOH), a maksimalna količina desorbovanog lijeka 0,063 mmol/g OC (nakon 24 h u fiziološkom rastvoru, uzorak sa 1,163 mmol/g COOH). U radu se proučava uticaj sadržaja COOH grupa i sorpcionih svojstava OC, kao i uticaj hemijske strukture diklofenaka, pH vrijednosti rastvora i trajanja sorpcije na količinu vezanog lijeka. Takođe, ispitana je i prekidna jačina oksidovanih celuloznih vlakana. Ustanovljeno je da se vezivanje lijeka ostvaruje pretežno vodoničnim vezama.

Ključne reči: oksidovana celuloza, diklofenak-K, hemizam vezivanja, biološki aktivno analgetsko vlakno.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

NAUČNI RAD

UDC 66.021.3.081.3:661.7

Hem. Ind. 72 (3) 167–176 (2018)

1. UVOD

Pored klasične primjene polimernih materijala u medicinske svrhe (gaze, zavoji), sa napretkom civilizacije ovi materijali se sve češće modifikuju sa ciljem dobijanja materijala sa specifičnim osobinama. Jedan od načina modifikovanja je uvođenje poželjnih funkcionalnih grupa koje omogućavaju vezivanje aktivnih supstanci na polimerni matriks i dobijanje biološki aktivnih materijala [1].

Biloški aktivni materijali predstavljaju materijale koji se mogu koristiti u terapijske svrhe [2]. Ovakvi materijali nude brojne prednosti u odnosu na konvencionalne medicinske terapije. Vezivanjem aktivnih supstanci različitim hemijskim vezama na polimerni nosač dobijaju se biomedicinski materijali za lokalnu primjenu, koji omogućavaju sigurno i kontinualno otpuštanje lijeka sa dužim periodom korisnog djelovanja [3,4].

Biološki aktivni materijali sa analgetskim djelovanjem predstavljaju jedan od trendova u razvoju "pametnih" materijala, a dobijaju se vezivanjem analgetika na različite polimerne nosače [5, 6].

Diklofenak ili 2-[(2,6-dihlorofenil)amino]fenil]acetat (slika 1) je jedan od najčešće korištenih analgetika koji ima analgetsko i antireumatično djelovanje [7]. Spada u grupu nesteroidnih antiinflamatornih i antireumatskih lijekova [8]. Oralno korištenje diklofenaka u dozama preko 150 mg dnevno izaziva veliki broj smetnji koje mogu dovesti do oštećenja organa, ponekad sa fatalnim ishodom [9], što ograničava terapijsku upotrebu lijeka. Transdermalnom primjenom diklofenaka na ograničenoj površini, lijek se oslobađa kontrolisano i ciljano, te se rješava veliki broj smetnji [10].

Dosadašnja istraživanja bave se vezivanjem diklofenaka na različite prirodne [10-13] i sintetičke polimere [14-16], kao i na derivate celuloze, karboksimetilcelulozu [17] i hidroksipropilmetilcelulozu (HPMC) [18].

Prednost celuloze kao nosača je njena netoksičnost i ekološka prihvatljivost [19]. Celulozna vlakna se mogu modifikovati na različite načine, ali se za vezivanje lijekova najčešće vrši selektivna oksidacija radi dobijanja oksidovane celuloze (OC) [20-22]. Međutim, nema literaturnih podataka o istraživanju vezivanja diklofenaka na oksidovanoj celulozi u obliku zavoja.

Korespondencija: Pero S. Sailović, Univerzitet u Banjoj Luci, Tehnološki fakultet, Bulevar Vojvode Stepe Stepanovića 73, 78000 Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

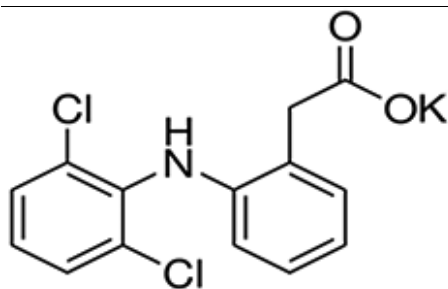
E-mail: pero.sailovic@tf.unibl.org

Rad primljen: 19. januara 2018.

Rad prihvaćen: 18. maja 2018.

<https://doi.org/10.2298/HEMIND180119010S>





Slika 1. Hemijska struktura diklofenak-kalijuma
Figure 1. Chemical structure of diclofenac potassium

Uvođenjem karboksilnih grupa u položaj C6 glukopiranozne jedinice dobijaju se grupe pogodne za fizičko i hemijsko vezivanje lijekova [23].

Do sada su na oksidovanu celulozu vezivani uglavnom antibiotici [24] i analgetici [25]. Prednost ovih sistema se ogleda u produženom vremenu djelovanja [4].

Cilj ovog rada bio je dobijanje potencijalno primjenjivog biološki aktivnog vlakna sa analgetskim djelovanjem. Ispitan je uticaj sadržaja COOH grupa i sorpcionih svojstava OC, te hemijske strukture diklofenaka, pH vrijednosti rastvora i trajanja sorpcije na hemizam i kinetiku vezivanja lijeka.

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Materijal

Za dobijanje OC korišten je celulozni kaliko zavoj (100 % pamuk, finoća pređe Nm 50/1, gustina tkanja 24 niti / cm²) sa utkanim rubom, proizvođača "Niva", Žabalj, Republika Srbija. Analgetik diklofenak u obliku kalijumove soli (M= 334,23 g/mol) proizvođača Amoli Organics PVT LTD, Indija, (broj serije RDK 71407/0004A), nabavljen je iz veleprodaje, u obliku bijelog praha kao čista aktivna supstanca. Ostale korištene hemikalije bile su analitički čiste i korištene su bez prethodnog prečišćavanja.

2.2. Dobijanje oksidovane celuloze

Oksidovana celuloza dobijena je prema metodi opisanoj u literaturi [26]. Oksidacija je vršena potapanjem 50 g celuloze u 700 ml smjese HNO₃/H₃PO₄ (2:1 v/v) i NaNO₂ (1,43 % m/v) na sobnoj temperaturi (25±1 °C), u trajanju od 5, 10 i 20 h. Proces oksidacije je zaustavljen dodavanjem vode u suvišku, nakon čega je oksidovana celuloza prvo ispirana vodom (do pH 4), zatim acetonom i na kraju osušena na sobnoj temperaturi.

2.3. Određivanje sadržaja karboksilnih grupa

Sadržaj karboksilnih grupa OC određen je modifikovanom kalcijum-acetatnom metodom [26]. Prema ovoj metodi 0,5 g defibrirane OC suspenduje se u 50 ml 2 % rastvora kalcijum-acetata 30 minuta. Pripremljena smjesa se zatim titrira sa 0,1 mol/L rastvorom natrijum-hidroksida uz fenolftalein kao indikator.

Sadržaj karboksilnih grupa po jedinici mase vlakna (dat kao srednja vrijednost tri mjerenja) se izračunava prema formuli:

$$\text{Sadržaj COOH} = \frac{0,1 \text{ M} \cdot V(\text{NaOH})}{m \cdot \left(1 - \frac{w}{100}\right)} \quad (1)$$

gdje je 0,1 M molaritet NaOH, V (NaOH)-zapremina rastvora NaOH utrošena za titraciju, m masa vlakna koje se tretira, w-sadržaj vlage, %.

2.4. Određivanje sadržaja karbonilnih grupa

Sadržaj karbonilnih grupa određen je hidrosilaminskom metodom, opisanoj u literaturi [27]. Uzorak oksidovane celuloze se defibrira, odvaži 1,0 g i potopi u 100 ml reagensa (rastvor hidrosilamin-hidrohlorida u rastvoru NaOH koncentracije 0,1 mol/L), pokrije folijom i zagrijava dva sata na 50 °C. Smjesa se zatim ohladi na 25°C, otpipetira 50 ml rastvora i titrira sa 0,1 mol/L rastvorom HCl, do postizanja pH=3,2.

Sadržaj karbonilnih grupa po jedinici mase vlakna (dat kao srednja vrijednost tri mjerenja) se izračunava prema formuli:

$$\text{Sadržaj CO} = \frac{0,1 \text{ M} \cdot V(\text{HCl})}{m \cdot \left(1 - \frac{w}{100}\right)} \quad (2)$$

gdje je 0,1 M molaritet HCl, V (HCl) zapremina rastvora HCl utrošena za titraciju, m masa vlakna koje se tretira, w-sadržaj vlage, %.

2.5. Određivanje sadržaja aldehidnih grupa

Sadržaj aldehidnih grupa određen je metodom opisanom u literaturi [26]. Aldehidne grupe su selektivno oksidovane u karboksilne grupe potapanjem 2,5 g OC u 10 ml rastvora 0,2 mol/L natrijum-hlorita (2 % m/v), pri pH 3 (podešeno dodavanjem 0,1 mol/L rastvora sirćetne kiseline) na sobnoj temperaturi na tamnom u trajanju 72 časa. Zatim je sadržaj karboksilnih grupa određen modifikovanom kalcijum-acetatnom metodom [26]. Sadržaj aldehidnih grupa (dat kao srednja vrijednost tri mjerenja) je dobijen oduzimanjem sadržaja karboksilnih grupa OC (netretiranih natrijum-hloritom) od sadržaja karboksilnih grupa istih uzorka OC nakon tretiranja natrijum-hloritom.

2.6. Određivanje vrijednosti vezivanja vode

Vrijednost vezivanja vode (VVV) oksidovane celuloze određena je standardnom metodom centrifugiranja (ASTM D, 2402-78). Metoda se zasniva na mjerenju količine vode koju suv uzorak upije (potopljen u destilovanu vodu u trajanju 1 h) i zadrži nakon centrifugiranja u trajanju 5 minuta na 5000 obrtaja u minutu na centrifugi Centric 150, Tehnica. Sadržaj vezane vode (dat kao prosječna vrijednost pet mjerenja) se izračunava prema formuli [28]:

$$VVV, \% = \frac{m_1 - m_2}{m_2} 100 \quad (3)$$

gde je m_1 masa uzorka nakon potapanja u vodu i centrifugiranja, m_2 masa suvog uzorka.

2.7. Mjerenje prekidne sile

Mjerenje prekidne sile vršeno je modifikovanom metodom prema standardu SRPS EN ISO 13934-1:2015 na uređaju AGS-X, Shimadzu, (Japan). Prekidna jačina je mjerena prije oksidacije zavoja i nakon oksidacije. Rastojanje između klema je podešeno na 40 mm, a brzina gornje kleme je bila 100 mm/min. Prekidna jačina zavoja izračunata je kao srednja vrijednost 5 mjerenja.

2.8. Sorpcija diklofenaka na OC

Vezivanje diklofenaka na OC sa različitim sadržajem karboksilnih grupa, vršeno je u statičkim uslovima. Uzorci oksidovanog zavoja (1 g) potopljeni su u 200 ml vodenog rastvora diklofenaka koncentracija $c = 2,5 \cdot 10^{-3}$, $3,4 \cdot 10^{-3}$ i $5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L na sobnoj temperaturi (26 ± 1 °C) tokom 24 časa. Spektrofotometrijsko mjerenje količine analgetika u rastvoru vršeno je nakon 5, 15 i 30 minuta, te 1, 2 i 24 sata. Mjerenja su vršena na UV-VIS spektrofotometru Perkin Elmer model Lambda 25 (SAD), na karakterističnoj talasnoj dužini za diklofenak od $\lambda_{\max} = 276$ nm i data kao srednja vrijednost tri mjerenja.

2.9. Otpuštanje diklofenaka sa OC

Otpuštanje diklofenaka sa OC vršeno je u statičkim uslovima potapanjem 1 g uzorka u 100 ml fiziološkog rastvora (0,95 % NaCl) na sobnoj temperaturi (25 ± 1 °C) tokom 24 časa. Spektrofotometrijsko mjerenje količine otpuštenog lijeka u rastvor vršeno je nakon 1, 2, 3, 4 i 24 sata i dato kao srednja vrijednost tri mjerenja.

2.10. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR)

FTIR spektri diklofenaka, OC i uzorka OC sa vezanim analgetikom snimljeni su na spektrofotometru Tensor 27, Bruker, (SAD), u području $4000-400$ cm^{-1} , primjenom ATR PLATINUM modula sa rezolucijom od 4 cm^{-1} i 16 skenova.

2.11. SEM analiza

Morfološke osobine OC i OC sa vezanim diklofenakom ispitane su primjenom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM), primjenom uređaja JEOL-JSM-5300 (Japan). Uzorci su pripremljeni neparavanjem zlatom tokom 5 minuta.

3. REZULTATI I DISKUSIJA

3.1. Dobijanje i karakterizacija OC

Oksidacija celuloznog zavoja vršena je smjesom $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaNO}_2$, tokom 5, 10 i 20 sati. Sadržaj funkcionalnih grupa na dobijenim uzorcima OC dat je u tabeli 1. Sadržaj karboksilnih grupa je određen kalcijum-acetatnom metodom [26] i kreće se u intervalu od 0,547 do 2,199 mmol/g OC. Određivanje aldehidnih grupa oksidacijom OC sa natrijum-hloritom [26] pokazalo je da su sve karbonilne grupe keto grupe, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima [26,29].

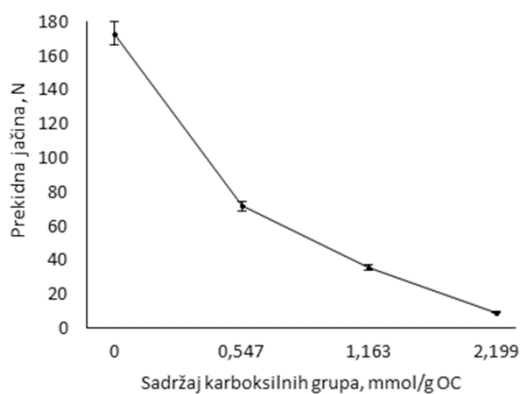
Tabela 1. Karakteristike dobijene oksidovane celuloze, Reakcioni sistem $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4$ (2:1 v/v) i NaNO_2 (1,43 % m/v), Temperatura 25 ± 1 °C

Table 1. Characteristics of the obtained oxidized cellulose (OC), Reaction system $\text{HNO}_3/\text{H}_3\text{PO}_4$ (2:1 v/v) and NaNO_2 (1,43 % m/v), Temperature 25 ± 1 °C

Vrijeme oksidacije, h	Sadržaj karboksilnih grupa, mmol/g OC	Sadržaj karbonilnih grupa, mmol/g OC	Sadržaj aldehidnih grupa, mmol/g OC
5	0,547	0,312	--
10	1,163	0,609	--
20	2,199	1,191	--

Određivanje sposobnosti vezivanja vode koristi se za procjenu reaktivnosti celuloze, odnosno pristupačnosti njenih hidroksilnih grupa. Sposobnost vezivanja vode OC opada sa porastom vremena oksidacije i iznosi 40,83, 35,05 i 28,03 % za uzorke oksidovane 5, 10 i 20 časova, redom. Može se pretpostaviti da do smanjenja sadržaja vezane vode dolazi zbog oksidacije hidroksilnih grupa u amorfim područjima, preko kojih se voda veže vodoničnim vezama [30].

Djelovanjem oksidacione smjese ne dolazi samo do oksidacije primarnih hidroksilnih grupa nego i do kidanja glikozidnih veza polimernih lanaca celuloze i depolimerizacije molekule, odnosno do promjena u molekulskoj i nadmolekulskoj strukturi celuloze [31]. Ovo značajno utiče na fizičke i mehaničke osobine. Mjerenjem prekidne sile uzoraka OC ustanovljeno je značajno smanjenje prekidne čvrstoće u odnosu na netretirani zavoj (slika 2).



Slika 2. Uticaj vremena oksidacije na prekidnu jačinu ($n=5$)
Figure 2. Effect of oxidation time on tensile strength at break ($n=5$)

Već kod uzorka sa najmanjim sadržajem karboksilnih grupa (0,547 mmol/g) dolazi do smanjenja prekidne čvrstoće za više od 50 % u odnosu na netretirani zavoj. Očekivano, najmanju prekidnu čvrstoću ima uzorak sa najvećim sadržajem karboksilnih grupa (2,199 mmol/g). Zbog slabe prekidne čvrstoće koja bi onemogućila primjenu ovog uzorka kao zavoja i najmanje sposobnosti vezivanja vode, uzorak OC sa 2,199 mmol/g OC nije upotrebljen za sorpciju diklofenaka.

3.2. Sorpcija diklofenaka

Količina vezanog diklofenaka na oksidovanoj celulozi prikazana je na slici 3. Očekivano, količina vezanog lijeka raste sa porastom sadržaja karboksilnih grupa i koncentracije rastvora iz koga se vrši sorpcija, kao i sa vremenom sorpcije.

Dobijeni rezultati su modelovani primjenom dva u literaturi najčešće korištena Lagergrenova modela [32], pseudo-prvog i pseudo-drugog reda, za oba uzorka OC sorbovana iz rastvora najviše koncentracije ($c=5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L).

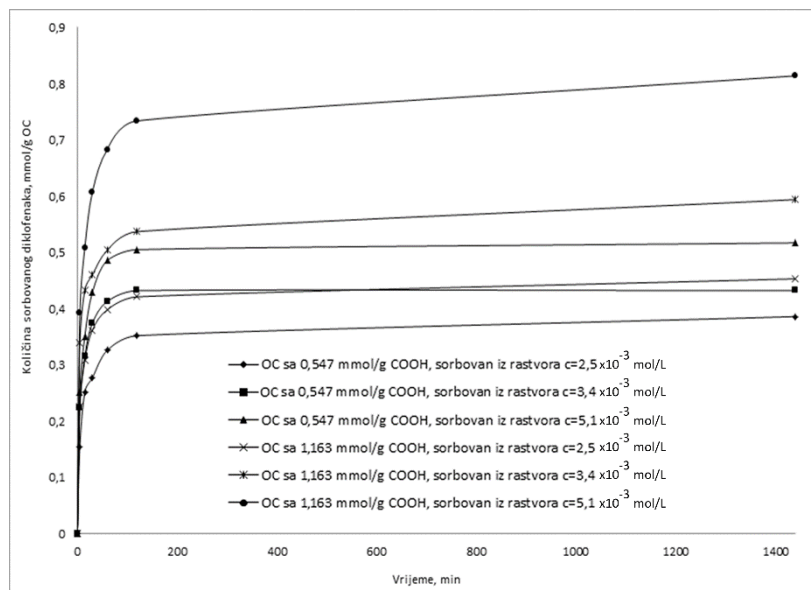
Dobijeno je da se u eksperimentalnim uslovima, za oba tipa zavoja, najbolje slaganje postiže primjenom modela pseudo-drugog reda ($R^2=1,00$), što ukazuje da se prilikom vezivanja dešava i adsorpcija i hemisorpcija.

Na osnovu nagiba krive i odsječka na y osi određena je konstanta brzine pseudo drugog reda i sorbovana količina diklofenaka u ravnoteži. Dobijene vrijednosti parametara q_e i k_{II} za OC sa dva različita sadržaja karboksilnih grupa i tri različite početne koncentracije date su u tabeli 2.

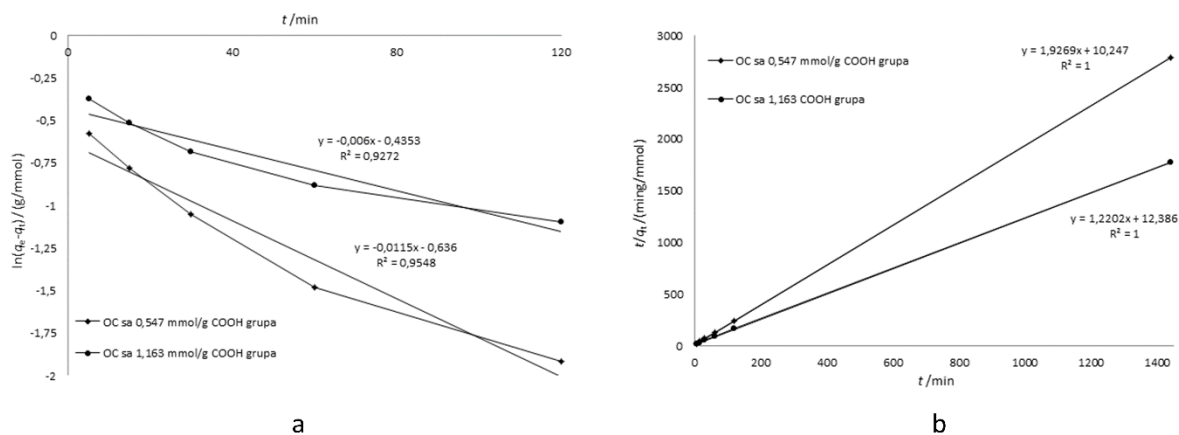
Tabela 2. Kinetički parametri za model pseudo-drugog reda za sorbovanje diklofenaka na OC

Table 2. Kinetic parameters of the pseudo-second order model for diclofenac sorbed to OC

$c / \text{mol dm}^{-3}$	$c = 2,5 \cdot 10^{-3}$		$c = 3,4 \cdot 10^{-3}$		$c = 5,1 \cdot 10^{-3}$	
Sadržaj COOH grupa, mmol / g OC	0,547	1,163	0,547	1,163	0,547	1,163
$k_{II} / \text{g mmol}^{-1} \text{min}^{-1}$	0,25	0,28	0,63	0,19	0,36	0,12
$q_e / \text{mmol g}^{-1}$	0,39	0,46	0,44	0,60	0,52	0,82
R^2	1	1	1	1	1	1



Slika 3. Količina sorbovanog diklofenaka na OC (mmol/g), modul kupatila 1:200, temperatura 26 ± 1 °C
 Figure 3. The quantity of diclofenac sorbed to OC (mmol/g), bath module 1:200, temperature 26 ± 1 °C



Slika 4. Primjena Lagergrenovog modela (linije) pseudo-prvog a) i pseudo-drugog reda b) na eksperimentalne podatke (simboli)
 Figure 4. Applications of Lagergren's model (lines) of pseudo-first a) and pseudo-second order b) on experimental results (symbols)

Iz tabele 2 može se uočiti da ravnotežna količina sorbovanog lijeka očekivano raste sa početnom koncentracijom rastvora i sa porastom sadržaja karboksilnih grupa, kao i da se nakon 24 h sorpcije praktično dostižu ravnotežne količine vezanog lijeka. Konstante brzine variraju sa početnom koncentracijom diklofenaka u rastvoru što je u saglasnosti sa podacima iz literature gdje nije uočen trend i dato objašnjenje promjene konstante brzine pseudo-drugog reda.

U strukturi diklofenaka (slika 1) prisustvo dva benzenska prstena, karboksilne grupe, sekundarne amino grupe i dva atoma hlora, kao i značajna konformaciona fleksibilnost [33], omogućavaju uspostavljanje višestrukih hemijskih veza lijeka sa oksidovanim celuloznim zavojem.

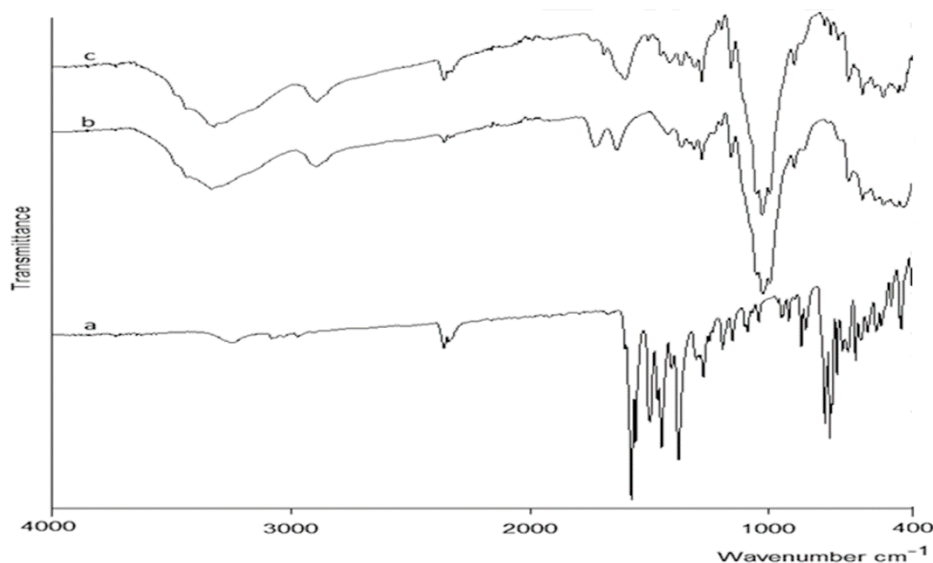
Sekundarna amino grupa diklofenaka može da gradi jonske veze sa karboksilnim grupama oksidovane celuloze. Karboksilna grupa analgetika može da se poveže vodoničnim vezama sa karboksilnim grupama OC uz stvaranje dimera [19]. Takođe, benzenski prstenovi diklofenaka mogu učestvovati u stvaranju Van der Valsovih (Van der Waals) interakcija sa glukoznim jedinicama celuloze (π - π interakcije) i OH grupama celuloze (π -H interakcije) [34].

Izmjerene pH vrijednosti rastvora tokom sorpcije kretale su se od 6,05 do 6,80 za OC sa 0,547 mmol/g COOH i od 5,49 do 6,41 za OC sa 1,163 mmol/g COOH. Pri ovim pH vrijednostima sekundarna amino grupa se ne prevodi u katjonsku formu jer je jonizovana tek ispod $\text{pH}\approx 2,2$ [35], što ukazuje na nemogućnost stvaranja jonskih veza između lijeka i OC.

Postignute pH vrijednosti omogućavaju disocijaciju COOH grupe oksidovane celuloze ($\text{pK}_a \approx 4$) [36] i karboksilne grupe diklofenaka ($\text{pK}_a \approx 4,15$) [37], što pogoduje građenju dimera. Pored toga, diklofenak ima sposobnost stvaranja vodoničnih veza između sekundarne amino grupe i atoma Cl lijeka sa OH grupama oksidovane celuloze.

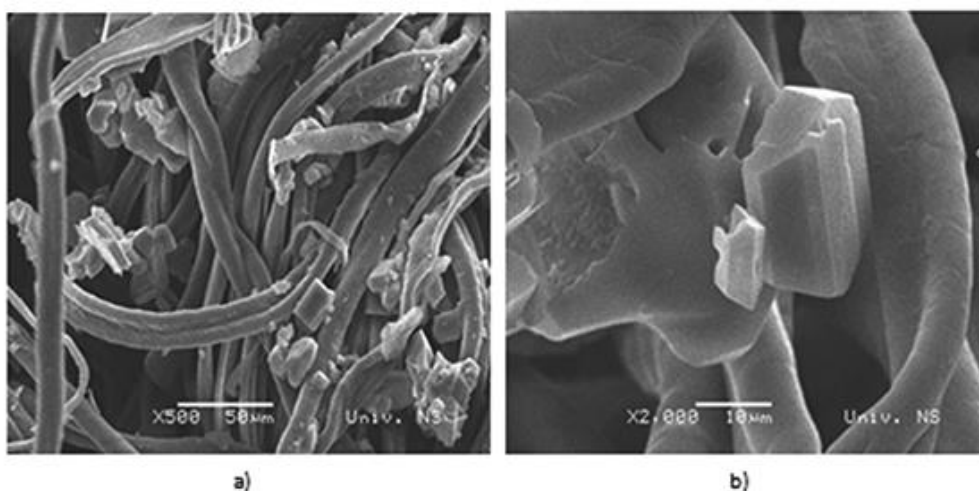
Na slici 5 prikazani su FTIR spektri diklofenaka (a), OC (b) i OC sa sorbovanim diklofenakom (c). Karakteristični pikovi za diklofenak su kod 3350 cm^{-1} za vibracije N-H istezanja, kod 1600 cm^{-1} za C=O istezanja karboksilatnog jona i pik kod

740 cm^{-1} za C-Cl vibracije istezanja. Oksidovana celuloza ima karakteristične pikove kod 3330 cm^{-1} za vibracije istezanja O-H grupe, 2890 cm^{-1} za vibracije istezanja C-H, 1730 cm^{-1} za C=O istezanje karboksilne grupe, i kod 1026 cm^{-1} za vibracije istezanja C-O [38]. U području od 3000 do 3550 cm^{-1} postoji široki apsorpcioni signal koji nastaje preklapanjem više traka kao što su trake za vibracije istezanja O-H grupe alkohola i O-H karboksilne grupe kiselina. Pored pika za karboksilnu grupu kod 1730 cm^{-1} , u spektru OC uočava se pik kod 1635 cm^{-1} koji potiče od adsorbovane vode i preklapa se sa manje značajnim pikovima za karbonilnu grupu. U literaturi je potvrđeno da se pik za adsorbovanu vodu gubi u spektrima uzoraka prethodno osušenih u vakuumu [39]. Smanjivanje pika za karboksilnu grupu kod 1730 cm^{-1} za OC sa sorbovanim diklofenakom (spektar (c)) nastaje kao posljedica prevođenja OC iz oblika sa slobodnim COOH grupama u oblik kalijumove soli, što se dešava tokom sorpcije diklofenak-kalijuma na OC. To potvrđuje i položaj pika za COO^- grupu kod 1600 cm^{-1} i pika u području 1350-1450 cm^{-1} [40].



Slika 5. FTIR spektar diklofenaka (a), OC (b) i OC sa sorbovanim diklofenakom (c)
Figure 5. FTIR spectrum of diclofenac (a), OC (b) and OC sorbed diclofenac (c)

Najveća količina lijeka vezana je za uzorak OC sa 1,163 mmol/g iz rastvora koncentracije $5,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L. Na slici 6 a se vidi da je adsorbovani diklofenak ravnomjerno raspoređen po površini vlakna, dok se na slici 6 b (veće uvećanje) vide veći agregati analgetika koji mogu nastati kao rezultat formiranja intermolekulskih vodoničnih veza molekula diklofenaka [33].



Slika 6. SEM mikrografija OC sa 1,163 mmol/g COOH sa sorbovanim diklofenakom nakon 24 h; razmjernik: (a) 50 μm i (b) 10 μm
Figure 6. SEM micrograph of OC with 1.163 mmol/g COOH after 24 h sorption of diclofenac; scale bar: (a) 50 μm and (b) 10 μm

Iako se lijek vezao pretežno vodoničnim vezama i Van der Valsovim interakcijama, vezana je relativno velika količina, izraženo u procentima kao količina vezanog diklofenaka u odnosu na količinu lijeka u rastvoru (tabela 3.)

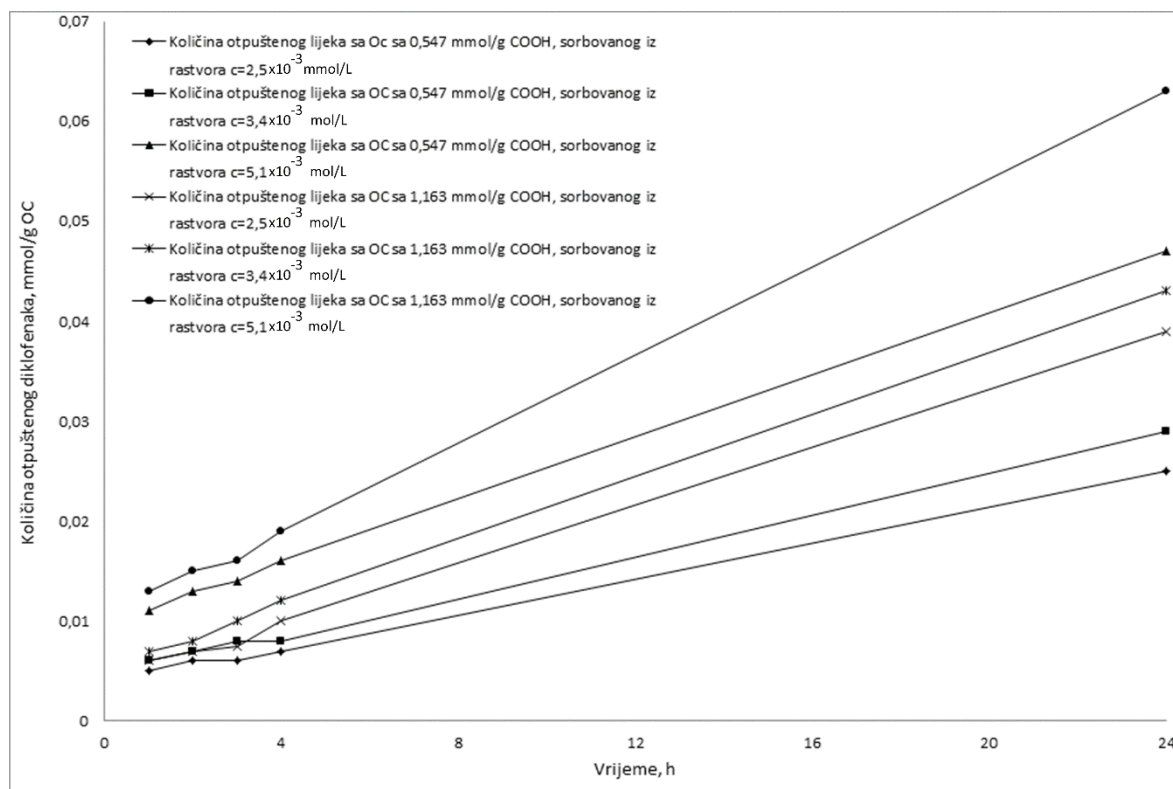
Tabela 3. Efikasnost sorpcije diklofenaka izražena u %, nakon 24h
 Table 3. Efficiency of diclofenac sorption expressed as % after 24 h

Sadržaj COOH, mmol/g OC	Količina sorbovanog diklofenaka, %	
	0,547	1,163
Koncentracija rastvora, mol/L		
$2,5 \cdot 10^{-3}$	77,03	79,03
$3,4 \cdot 10^{-3}$	66,69	77,92
$5,1 \cdot 10^{-3}$	50,64	72,01

Diklofenak se može aplicirati transdermalno u obliku gelova i flastera. Obzirom da je količina lijeka vezanog na OC po gramu vlakna (27,2 %) višestruko veća od mase lijeka po g nosača u komercijalnom gelu u provedenim istraživanjima (1,16 % diklofenak dietilamina po masi gela) [41], OC vlakno sa vezanim diklofenakom zadovoljava osnovni uslov za potencijalnu terapijsku primjenu.

3.3. Desorpcija diklofenaka

Rezultati desorpcije prikazani na slici 7. pokazuju da se diklofenak u fiziološkom rastvoru oslobađa sa OC tokom cijelog procesa desorpcije. Dolazi do inicijalne desorpcije nakon čega u ispitivanom vremenskom intervalu od 4 h ne dolazi do dalje značajne desorpcije. Ipak nakon 24 h količina otpuštenog lijeka se značajno poveća. Pri tome se otpušta 6,3 do 12,5 % od ukupne količine vezanog lijeka.



Slika 7. Količina otpuštenog diklofenaka sa OC (mmol/g), modul kupatila 1:100, temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$
 Figure 7. The quantity of diclofenac released from OC (mmol/g), bath module 1:100, temperature $25 \pm 1^\circ\text{C}$

Na osnovu pH vrijednosti rastvora tokom procesa sorpcije, koji onemogućava stvaranje jačih, jonskih veza, može se zaključiti da je lijek vezan za OC labavim H-vezama i π - π interakcijama. Slabije otpuštanje lijeka vezanog relativno labavim vezama, može se tumačiti višestrukim vezivanjem lijeka sa OC i formiranjem agregata, prikazanih na slici 3b. Procentualno smanjenje otpuštanja sa porastom koncentracije lijeka tokom sorpcije, ide u prilog ovoj tezi. Veliki broj vodoničnih veza može imati sinergijski efekat čiji je rezultat jače vezivanje [42], zbog čega se lijek postepeno otpušta u fiziološkom rastvoru. Iako se otpušta relativno mala količina od vezanog lijeka, to predstavlja dovoljnu količinu da lijek djeluje i da se može eventualno primjenjivati kao analgetski zavoj.

4. ZAKLJUČAK

Selektivnom oksidacijom celuloznog vlakna u formi zavoja dobijeno je oksidovano celulozno vlakno (OC) sa 0,547, 1,163 i 2,199 mmol/g karboksilnih grupa. Oksidovana celuloza sa 2,199 mmol/g je pokazala slabe mehaničke karakteristike i najmanju sposobnost sorpcije vode, zbog čega nije korištena za sorpciju lijeka. Sorpcijom diklofenaka na OC moguće je dobiti biološki aktivno celulozno vlakno sa analgetskim djelovanjem. Maksimalna količina diklofenaka na OC nakon 24 h sorpcije u vodenim rastvorima antibiotika iznosila je 0,814 mmol/g OC. Hemijska struktura lijeka omogućava formiranje vodoničnih veza i π - π interakcije između diklofenaka i OC. Desorpcijom lijeka sa OC u fiziološkom rastvoru nakon 24 h otpušta se maksimalno 12,5 % vezanog analgetika. Slabije otpuštanje lijeka je posljedica formiranja višestrukih veza sa OC i stvaranja agregata lijeka na površini vlakna.

Zahvalnica: Rezultati ovog rada su dio projekta "Dobijanje celuloznog zavoja sa produženim antimikrobnim djelovanjem" (19/6-020/961-55/15), koji je finansijski podržan od strane Ministarstva nauke i tehnologije Republike Srpske.

LITERATURA

- [1] Whitelock JM, Iozzo RV. Heparan Sulfate: A Complex Polymer Charged with Biological Activity. *Chem Rev.* 2005; 105(7): 2745–2764.
- [2] Zhukovskii VA. Current status and prospects for development and production of biologically active fibre material for medical applications. *Fibre Chem.* 2005; 37: 352–355.
- [3] Vuorio M, Manzanares JA, Murtomaki L, Hirvonen J, Kankkunen T, Kontturi K. Ionic-exchange fibers and drugs: a transient study. *J Controlled Release.* 2003; 91: 439-448.
- [4] Rodić Grabovac B, Đudić R, Sailović P. Obtaining of materials with antibacterial activity by bonding of cefazoline on modified cellulosic bandage. *Contemp Mater.* 2014; 5(2): 222-227.
- [5] Ammar HO, Ghorab M, El-Nahhas SA, Kamel R. Polymeric Matrix System for Prolonged Delivery of Tramadol Hydrochloride, Part I: Physicochemical Evaluation. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2009; 10 (1): 7-20.
- [6] Yang L, Fassihi R. Modulation of diclofenac release from a totally soluble controlled release drug delivery system. *J Controlled release.* 1997; 44(2-3): 135-140.
- [7] Mandava V, Basaveswara R, Reddy BCK, Srinivasa RT, Prasanthi V. Estimation of Diclofenac Sodium Pellets (Extended Release) In Commercial Dosage Forms Using a Simple and Convenient Spectrophotometric Method. *Rasayan J. Chem.* 2009; 2(2): 488-490.
- [8] Matin AA, Farajzadeh MA, Jouyban A. A simple spectrophotometric method for determination of sodium diclofenac in pharmaceutical formulations. *IL. Farmaco.* 2005; 60(10): 855-858.
- [9] Hickey EJ, Raje RR, Reid VE, Gross SM, Ray SD. Diclofenac Induced in Vivo Nephrotoxicity May Involve Oxidative Stress-Mediated Massive Genomic DNA Fragmentation and Apoptotic Cell Death. *Free Radic Biol Med.* 2001; 31(2): 139-152.
- [10] Aiello PB, Borges FA, Romeira KM, Romeiro Miranda MC, de Arruda LB, Filho PNL, de C. Drago B, Herculano RD. Evaluation of sodium diclofenac release using natural rubber latex as carrier. *Mat. Res.* 2014; 17: 146-152.
- [11] Kozakevych RB, Bolbukh YM, Tertykh VA. Controlled Release of Diclofenac Sodium from Silica-Chitosan Composites. *World Journal of Nano Science and Engineering.* 2013; 3(3): 69-78.
- [12] Holgado MA, Sánchez-Lafuente C, Rabasco AM, Fini A. Alginate/chitosan particulate systems for sodium diclofenac release. *Int J Pharm.* 2002; 232(1-2): 225-234.
- [13] McLaughlin FC, Mumper RJ, Wang J, Tagliaferri JM, Gill I, Hinchcliffe M, Rolland AP. Chitosan and depolymerized chitosan oligomers as condensing carriers for in vivo plasmid delivery. *J Controlled Release.* 1998; 56: 259–272.
- [14] Billa N, Yuen KH, Peh KK. Diclofenac release from eudragit-containing matrices and effects of thermal treatment. *Drug Dev Ind Pharm.* 1998; 24(1): 45-50.
- [15] Chawla V, Tiwary AK, Gupta S. Characterization of polyvinylalcohol microspheres of diclofenac sodium: application of statistical design. *Drug Dev In. Pharm.* 2000; 26: 675–680.
- [16] Tuncay M, Calis S, Kas HS, Ercan MT, Pekosy I, Hincal AA. Diclofenac sodium incorporated PLGA incorporated (5:50) microspheres: formulation consideration and in vitro/in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* 2000; 15: 179–188.
- [17] Arica B, Arica MY, Kas HS, Hincal AA, Hasirci V. In vitro studies of enteric coated diclofenac sodium-carboxymethylcellulose microspheres. *J. Microencapsul.* 1996; 13: 689–699.
- [18] Gubbins RH, O'Driscoll CM, Corrigan OI. The effects of casein on diclofenac release from hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) compacts. *Int J Pharm.* 2003; 260(1): 69-76.
- [19] Rodić Grabovac B, Đudić R, Sailović P. Uticaj strukture ceftazidima na dobijanje biološki aktivnog celuloznog zavoja. *Hem Ind.* 2017; 71(1): 35–40. (in Serbian)
- [20] Du Z, Zhang L, Xu Y. Characterization of Structure and Property of the Monocarboxyl Bamboo Pulp Fibers. *Mater Sci Appl.* 2015; 6: 279-285.

- [21] Yurkshtovich TL, Zimnitski DS, Bychkovski PM. Effect of Structural and Electrolytic Properties of Carboxyl-Containing Cellulose Cationites on the Sorption of Cephalexin from Aqueous Solutions. *Colloid J.* 2004; 66(2): 239-244.
- [22] Kumar V, Deshpande SG. Noncovalent immobilization of bovine serum albumin on oxidized cellulose. *Artif Cells Blood Substit Biotechnol.* 2001; 29(3): 203-212.
- [23] Yurkshtovich TL, Alinovskaya VA, Butrim NS. Specific Features of Lincomycin and Gentamicin Sorption from Aqueous Solutions of Their Salts and Bases by Monocarboxyl Cellulose. *Colloid J.* 2002; 64(3): 379-383.
- [24] Đudić R, Sailović P, Rodić Grabovac B, Rudić B. Uticaj koncentracije rastvora cefaleksina na sorpciju na modifikovano celulozno vlakno. *Glasnik hem. teh. i ek. RS.* 2015; 11: 19-23. (in Serbian)
- [25] Rodić-Grabovac B, Đudić R, Ilišković N. Dobijanje biološki-aktivnog celuloznog vlakna sa anestezijskim djelovanjem. U: *Ekologija, zdravlje, rad, sport, 1,2.* Banjaluka, BiH, 2006, pp. 226-232. (in Serbian)
- [26] Kumar V, Yang T. HNO₃/H₃PO₄-NaNO₂ mediated oxidation of cellulose - preparation and characterization of bioabsorbable oxidized celluloses in high yields and with different levels of oxidation. *Carbohydr Polym.* 2002; 48: 403-412.
- [27] Whistler RL. Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. III, Cellulose. New York, NY: Academic Press; 1963: 49-51.
- [28] Spaic M, Smal DP, Cook JR, Wan W. Characterization of anionic and cationic functionalized bacterial cellulose nanofibres for controlled release applications. *Cellulose.* 2014; 21: 1529-1540.
- [29] Xu Y, Liu X, Liu X, Tan J, Zhu H. Influence of HNO₃/H₃PO₄-NaNO₂ mediated oxidation on the structure and properties of cellulose fibers. *Carbohydr Polym.* 2014; 111: 955-963.
- [30] Klemm D, Philipp B, Heinze T, Heinze U. Wagenknecht W. Comprehensive Cellulose Chemistry, Volume 1, Fundamentals and Analytical Methods. Weinheim, W: Wiley; 1998.
- [31] Saito T, Isogai A. TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. The effect of oxidation conditions 420 on chemical and crystal structures of the water-insoluble fractions. *Biomacromolecule.* 2004; 5: 1983-1989.
- [32] Y.-S. Ho. Review of second-order models for adsorption systems. *J Hazard Mater.* 2006; 136(3): 681-689.
- [33] Gaitano O, Calvo N, Narda G, Kaufman T, Maggio R, Elena Brusau V. Preparation and Physical Characterization of a Diclofenac-Ranitidine Co-precipitate for Improving the Dissolution of Diclofenac. *J Pharm Sci.* 2016; 105: 1258-1268.
- [34] Burkinshaw SM. Physico-chemical Aspects of Textile Coloration. West Yorkshire, WY: Wiley; 2016.
- [35] CHEMICALIZE FEATURES. <https://chemicalize.com/#/calculation>, Accessed December 28, 2017.
- [36] Kankkunen T. Controlled transdermal drug delivery by iontophoresis and ion-exchange fiber, Academic dissertation, Department of Pharmacy, University of Helsinki, 2002: 31. <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/mat/farma/vk/kankkunen/control.pdf>
- [37] Ramya B, Vinod Kumar K, Ramalingam P, Ravindra Reddy J. UV derivative spectrophotometric method for simultaneous estimation of metaxalone and diclofenac potassium in combined dosage form. *Int J Pharm Sci Res.* 2012; 3(11): 4301-4305.
- [38] Široky J, Blackburn RS, Bechtold T, Taylor J, White P. Attenuated total reflectance Fourier-transform Infrared spectroscopy analysis of crystallinity changes in lyocell following continuous treatment with sodium hydroxide. *Cellulose.* 2010; 17: 103-115.
- [39] Lojewska J, Miskowicz P, Lojewski T, Proniewicz LM. Cellulose oxidative and hydrolytic degradation: In situ FTIR approach. *Polymer degradation and stability.* 2005; 88: 512-520.
- [40] Zbankov RG. Infrared spectra of cellulose and its derivatives. New York, NY: Springer Science; 1966.
- [41] Niethard FU, Gold MS, Solomon GS, Liu JM, Unkauf M, Albrecht HH, Elkik F. Efficacy of topical diclofenac diethylamine gel in osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol.* 2005; 32(12): 2384-2392.
- [42] Bissantz C, Kuhn B, Stahl M. A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions. *J Med Chem.* 2010; 53(14): 5061-5084.

SUMMARY

SORPTION OF DICLOFENAC TO SELECTIVELY OXIDISED CELLULOSE

Pero S. Sailovic¹, Branka B. Rodic Grabovac¹, Uletilović M. Snezana²

¹University of Banja Luka, Faculty of Technology, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²University of Banja Luka, Faculty of Medicine, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

(Scientific paper)

Biologically active fibers as drug carriers have improved characteristics in comparison with conventional medical therapies. Cellulose as a hydrophilic and biocompatible, nontoxic and eco-friendly material, makes a good polymer matrix for obtaining biologically active fibers. Loading drugs on the fiber carrier is accomplished through hydrophobic interactions, which is a prevailing mechanism of drug bonding. These interactions can be achieved by hydrophobic parts of the drug and the fiber carrier or by hydrophobic drugs themselves bonded on the fiber. In this paper, oxidized cellulose (OC) with 0.547, 1.163 and 2.199 mmol/g COOH is produced by using selective oxidation of a cellulose-based bandage. Oxidation has been carried out in mixture of HNO₃/H₃PO₄ 2:1 and 1.43 % NaNO₂ for 5, 10 and 20 h at 25 ± 1 °C. The OC sample with 2.199 mmol/g COOH showed the lowest sorption capacity as well as weak mechanical properties, so that the sorption experiments were not further pursued. The other two samples of oxidized cellulose with 0.547 and 1.163 mmol/g COOH have been used for chemical bonding of an analgesic, diclofenac, a derivative of potassium salt.

Diclofenac in its structure contains two benzene rings which are linked via a secondary amine. The analgesic also contains a carboxyl group, as well as 2 chlorine atoms. As a result of the presence of these functional groups and structures, diclofenac can build multiple chemical bonds with an oxidized cellulose bandage.

The chemical bonding of the drug has been performed using three analgesic solutions with concentrations of $c = 2.5 \cdot 10^{-3}$, $3.4 \cdot 10^{-3}$ and $5.1 \cdot 10^{-3}$ mol/L, at the temperature of 26 ± 1 °C while desorption was performed in physiological saline solution. The amounts of bonded and released antibiotic were determined by UV-VIS spectroscopy at the wavelength of $\lambda_{\max} = 276$ nm. The maximum amount of bonded drug (0.814 mmol/g OC) has been obtained by sorption from the solution of concentration $c = 5.1 \cdot 10^{-3}$, while the highest amount of desorbed diclofenac was 0.063 mmol/g OC. The sorption kinetics has been successfully described by the pseudo-second order model.

It was established that the drug bonding was achieved by hydrogen bonds of the drug functional groups with the oxidised cellulose bandage. Low diclofenac release from the oxidised cellulose (12.5 % in 24 h) is a consequence of formation of multiple bond as well as drug aggregates on fiber surfaces.

Keywords: oxidised cellulose • diclofenac-K • chemism of binding • biologically active analgetic fiber