



مشخصه یابی نانو هیدروژل زیستی سنتز شده بر پایه صمغ دانه مرو (*Salvia macrosiphon boiss*) با روش های اسپکتروسکوپی و بررسی میزان تورم و دارورسانی آن با تغییرات دما و pH

هما کوشکی، محمد مهرشاد*، هاشم اخلاقی

گروه شیمی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۴۰۰/۰۴/۱۱، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۰/۰۸/۲۶، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۰/۰۹/۱۵

چکیده

پژوهش حاضر با هدف تولید نانو هیدروژل زیستی بر پایه صمغ دانه مرو و بررسی میزان تورم و دارورسانی آن با تغییرات دما و pH صورت پذیرفت. در این پژوهش، کامپوزیت های بر پایه نانو ذرات Fe_3O_4 پوشش داده شده با سیلیکاژل و اصلاح شده توسط گروه های وینیلی تهیه شد. نانوذره اصلاح شده با ژل دانه مرو واکنش داده شد تا پیوند کووالانس بین دو ترکیب برقرار شود. سپس داروی ناپروکسن به نانو هیدروژل نهایی اضافه شد. برای اطمینان از بارگذاری دارو از طیف سنجی UV استفاده شد. بعد از آن مرحله، رهایش دارو نیز مورد آزمایش قرار گرفت و دوباره از طیف سنجی UV بهره گرفته شد. همچنین برای شناسایی نانو ذرات اصلاح شده از طیف سنجی FT-IR استفاده شد. مورفولوژی سطح و نحوه پخش شدگی نانو ذرات در نانو هیدروژل دانه مرو نیز با استفاده از تکنیک میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM مورد بررسی قرار گرفت. با قرار گرفتن هیدروژل در بافر با pH برابر ۷/۴، محلول بافر به درون شبکه هیدروژل نفوذ کرده و دارو از آن آزاد می شود، بنابراین با گذشت زمان، غلظت دارو در بافر افزایش می یابد و میزان جذب ناپروکسن بارگذاری شده: ۲/۱۷۵، میزان جذب ناپروکسن آزاد شده بعد از ۲۴ ساعت: ۱/۳۸۶ و درصد رهایش دارو بعد از ۲۴ ساعت: ۶۳/۷۰ درصد بدست آمد.

واژه های کلیدی: نانو هیدروژل زیستی، صمغ دانه مرو، میزان تورم و دارورسانی، تغییرات دما، pH

۱. مقدمه

جنس سالویا (*Salvia*) که از خانواده نعنائیان می باشد مجموعه عظیمی از تقریباً ۱۰۰۰ گونه در جهان است و لذا از بزرگترین جنس خانواده نعنائیان محسوب می گردد. گیاهان متعلق به این جنس از نقطه نظر دارو شناسی فعال بوده و در طب سنتی مورد استفاده قرار

*عهده دار مکاتبات: محمد مهرشاد

نشانی: گروه شیمی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

پست الکترونیک: E-mail: mohammad.mehrshad@iaus.ac.ir

تلفن: ۰۵۱۴۱۴۴۲۵۲۵

می‌گیرند. گیاهان *Salvia macrosiphon boiss* با نام عمومی wild sage یک گونه گیاهی پایا، دارای برگ‌ها و کاسبرگ‌های بزرگ و غشایی با پنج دانه نوک تیز است که در شیراز، اصفهان، خراسان و بلوچستان به خوبی رشد می‌کند. دانه‌های این گیاه که با نام دانه مرو در ایران شناخته می‌شود، دانه‌هایی است کروی و کوچک به اندازه شاهدانه و همرنگ با آن که ظاهری براق و شکلی سه وجهی با یک وجه بزرگتر دارد. دانه‌های مرو به هنگام غوطه ور شدن در آب، ژلاتینه شده و مقادیر زیادی مواد موسیلاژی آزاد می‌کنند که در طب سنتی به عنوان شل کننده در رفع خارش‌های گلو و سرفه در فرمول چهار تخم مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱].

صمغ حاصل از دانه مرو و یک صمغ آنیونی از نوع گالاکتومانان (نسبت مانوز به گالاکتوز: ۷۸/۱-۹۳/۱ به ۱) درصد، با وزن مولکولی متوسط (۴۰۰ کیلودالتون) و پیکره سفت میله مانند است و حاوی ۲/۲۸-۲/۳۲ درصد اسید اورئیک بوده که بیانگر ماهیت پلی‌الکترولیتی آن می‌باشد. از نظر رئولوژیکی محلول‌های صمغ دانه مرو رفتار شدیداً شل شونده با برش نشان داده که نسبت به بسیاری از هیدروکلئیدهای^۱ تجاری نظیر صمغ گوار، صمغ لوبیای لوکاست، صمغ تارا، صمغ شنبلیل و صمغ کنجاک در شرایط مشابه، بالاتر می‌باشد. این صمغ در غلظت‌های ۰/۵ درصد به بالا، رفتار ژلی ضعیفی را بروز می‌دهد. بالا بودن ویسکوزیته، تنش تسلیم و رفتار شدیداً سودوپلاستیک صمغ دانه مرو در غلظت‌ها و دماهای مختلف نشان می‌دهد که این صمغ جدید ویژگی‌های کاری خوبی را به عنوان یک پایدار کننده، غلیظ کننده، پیوند دهنده و ژلی کننده در سیستم‌های غذایی، آرایشی و بهداشتی بدست می‌دهد [۲]. ترکیبات صمغ دانه مرو در شرایط بهینه پس از خشک شدن به طور معمول و تقریبی به شرح زیر است: ۶/۷۲ درصد رطوبت، ۰/۸۵ درصد چربی، ۸/۱۷ درصد خاکستر، ۲/۸۴ درصد پروتئین، ۱/۶۷ درصد فیبر خام و ۷۹/۷۵ درصد میزان کربوهیدرات. اطلاعات بیشتر در مورد ساختار شیمیایی صمغ مرو در دسترس نیست [۲]. هیدروژل‌ها^۲ شبکه‌های بسیاری با پیکربندی سه‌بعدی آب دوست و دارای اتصالات عرضی هستند که در تماس با آب متورم شده اما در آن حل نمی‌شوند. شرایط تهیه هیدروژل‌ها نیز به‌طور قابل ملاحظه‌ای ملایم‌تر است و علاوه بر تشکیل ژل در دمای محیط به ندرت از حلال‌های آلی در فرایند تولید آن‌ها استفاده می‌شود. به ویژه انواعی که در دارورسانی و اهداف پزشکی زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند، باید زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری قابل قبولی داشته باشند [۳]. اخیراً از هیدروژل‌ها در پزشکی، داروسازی، صنایع بهداشتی، آرایشی، کشاورزی، باغبانی و صنعتی استفاده شده است [۴]. امروزه استفاده روزافزون هیدروژل‌ها در عرصه پزشکی، اهمیت آن‌ها را بیش از پیش آشکار کرده است. مثال‌هایی شامل: معالجه زخم، رهایش داروی ویژه روده‌ی بزرگ، رهایش داروی موضعی، تحویل داروی داخل چشمی، اصلاح دوز دارو، مهندسی بافت، رهایش داروهای پروتئینی و پپتیدی است [۵].

هدف از این تحقیق، تولید نانو هیدروژل زیستی بر پایه صمغ دانه مرو و بررسی میزان تورم و دارورسانی آن با تغییرات دما و pH می‌باشد.

¹ Hydrocolloids

² Hydrogel

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد شیمیایی

کلیه مواد استفاده شده در این پروژه با خلوص تجزیه‌ای بوده و همگی از شرکت مرک تهیه شدند (جدول ۱). مشخصات دستگاه‌ها و تجهیزات استفاده شده در این تحقیق نیز در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱. مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق به همراه مشخصات آن‌ها

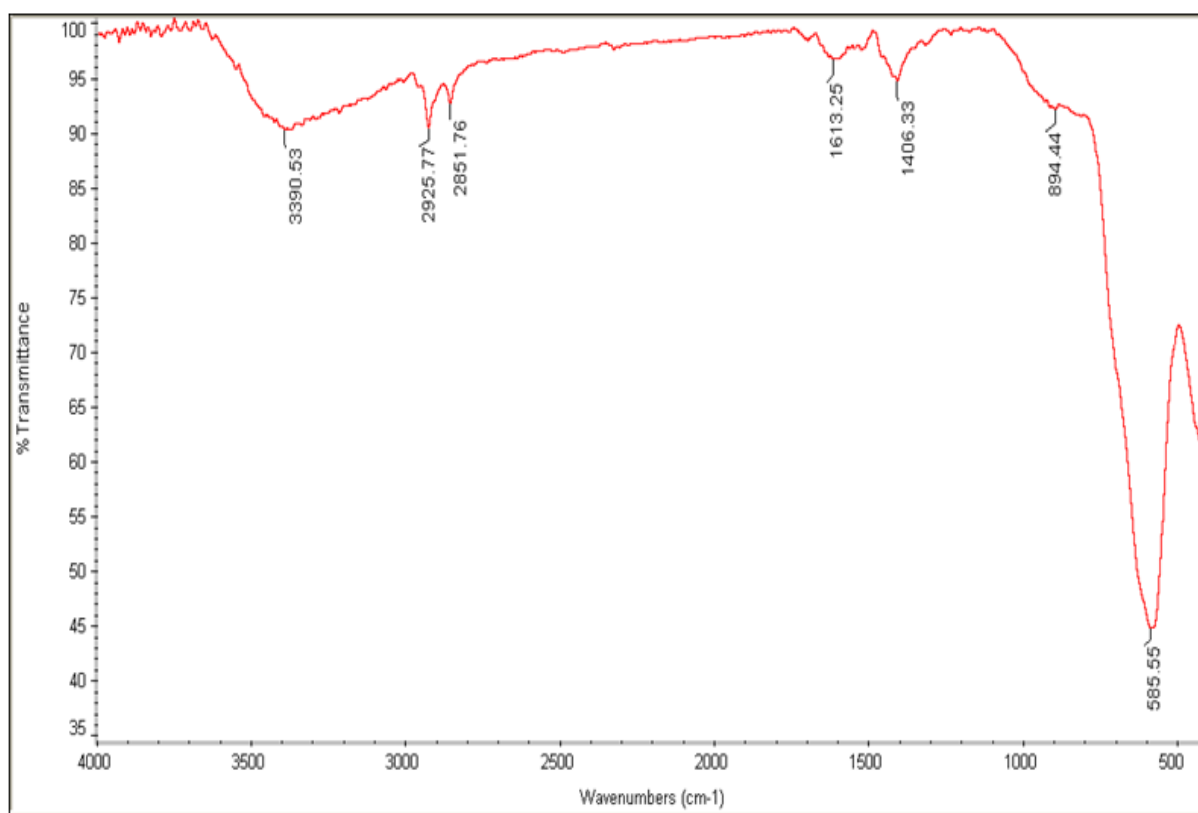
ردیف	نام فارسی	نام لاتین یا فرمول شیمیایی	علامت اختصاری	شرکت سازنده
۱	تترا اتیل اورتو سیلیکات	Tetraethyl Orthosilicate	TEOS	MERCK
۲	وینیل تری متوکسی سیلان	Vinyltrimethoxysilane	VTMOS	MERCK
۳	آمونیاک	NH ₃	-	MERCK
۴	اولئیک اسید	Oleic acid	-	MERCK
۵	کلروفرم	CHCl ₃	-	MERCK
۶	هیدروکلریک اسید	HCl	-	MERCK
۷	کلرید آهن II چهارآبه	FeCl ₂ .4H ₂ O	-	MERCK
۸	سود	NaOH	-	MERCK
۹	کلرید آهن III شش آبه	FeCl ₃ .6H ₂ O	-	MERCK
۱۰	اتانول	Ethanol	-	MERCK
۱۱	متانول	Methanol	-	MERCK
۱۲	متاکریلیک اسید	Methacrylic acid	MA	MERCK
۱۳	اتیلن گلیکول دی متاکریلات	Ethylene glycol dimethacrylat	EGDMA	MERCK
۱۴	آزو بیس ایزو بوتیل نیتریل	Azo Bis Iso Butyl nitryl	AIBN	MERCK
۱۵	مونوپتاسیم فسفات	KH ₂ PO ₄		MERCK
۱۶	دی پتاسیم فسفات	K ₂ HPO ₄		MERCK
۱۷	صمغ دانه مرو			

جدول ۲. مشخصات دستگاه‌ها و تجهیزات استفاده شده

ردیف	نام فارسی	نام لاتین	علامت اختصاری	مدل یا شرکت سازنده
۱	دستگاه طیف سنجی مرئی-فرابنفش	Ultraviolet-Visible spectroscopy	UV-Vis	T70+
۲	میکروسکوپ الکترونی روبشی	Scanning Electron Microscope	Fe-SEM	VP1450
۳	طیف سنج فروسرخ	Infrared spectrometer	FT-IR	shimadzu FT-880 S
۴	ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم	Sensitivity Scale	--	Mettler
۵	آون خلأ	Vaccum Oven	--	U30
۶	حمام اولتراسونیک	Ultrasonic bath	--	Bandelin

۲-۲. سنتز نانو ذرات مغناطیسی Fe₃O₄

این مرحله طبق روش ارائه شده توسط فرجی و همکاران (۲۰۱۰)، انجام شد [۶]. به یک بالن ۲۰۰ میلی لیتری ۳ دهانه مجهز به مبرد رفلاکس و ورودی و خروجی گاز آرگن و همزن مغناطیسی، ۱۵۰ میلی لیتر آب، ۲ گرم (۰/۰۱ میلی مول) FeCl₂.4H₂O و ۵/۴۳ گرم (۰/۰۲ میلی مول) FeCl₃.6H₂O (نسبت ۱:۲) اضافه شد. دمای مخلوط واکنش ضمن هم زدن به دمای ۸۰ درجه سانتی گراد رسانده شد و در این دما به محلول واکنش قطره قطره ۷۵ میلی لیتر محلول آمونیاک ۲۵٪ اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه دیگر در همین دما همزده شد. حالا ۵ میلی لیتر اولئیک اسید به صورت قطره قطره به مخلوط واکنش اضافه شد. دوباره مخلوط واکنش به مدت ۳ ساعت دیگر در دما و شرایط قبل هم زده شد. بعد از گذشت این زمان مخلوط سیاهی حاصل شد که با افزودن اتانول ۹۵٪ به آن تشکیل دو فاز مشاهده گردید. محصول توسط یک آهن ربای قوی خارجی به آرامی و بعد از گذشت یک شبانه روز از فاز محلول جدا شد. نمونه جامد حاصل چندین بار با اتانول ۹۵٪ شستشو و در نهایت در آون خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد. بعد از خشک شدن کامل، توسط تکنیک طیف سنجی FT-IR مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۵-۱).

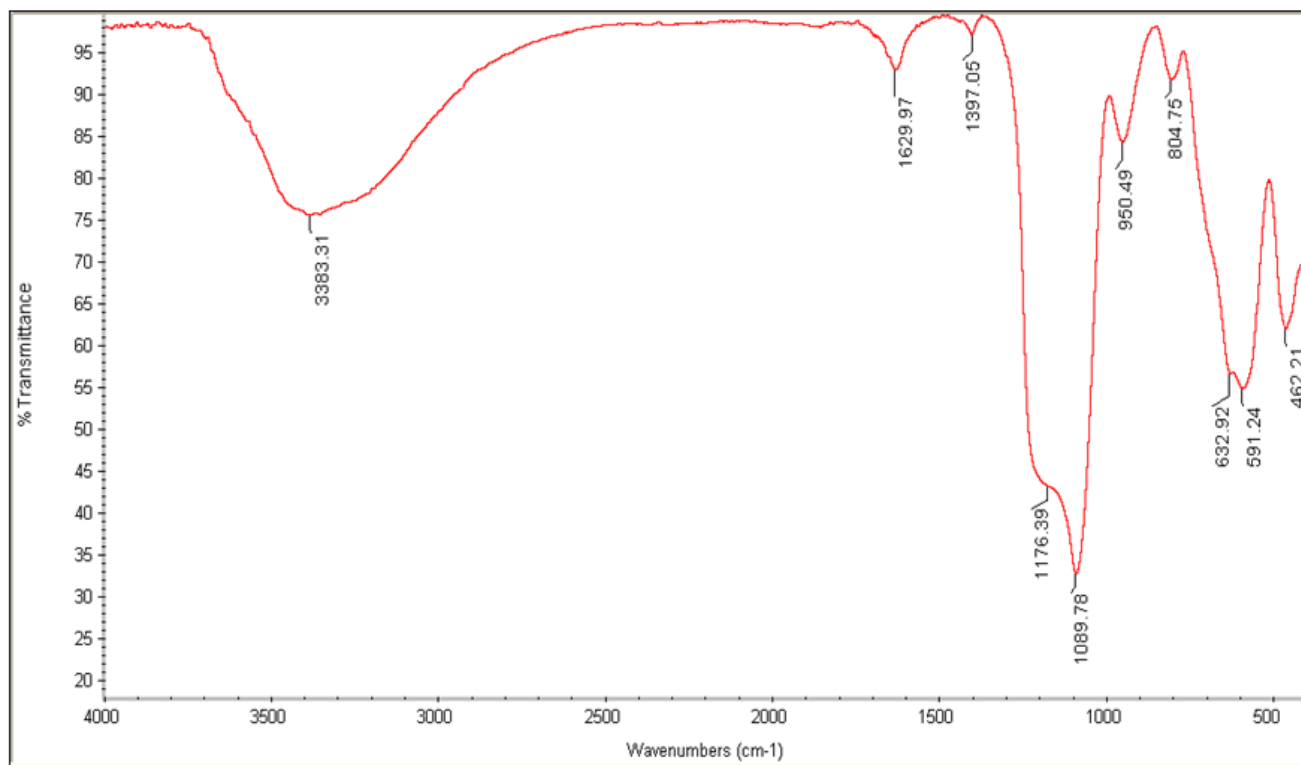


شکل ۱. طیف FT-IR برای نمونه Fe₃O₄

شکل ۱ طیف FT-IR مربوط به نانو ذرات Fe₃O₄ را نشان می‌دهد. در این طیف پیک شاخص که در ناحیه ۵۸۵/۵۵۵cm⁻¹ ظاهر شده است مربوط به حرکات کششی پیوند Fe-O است که نشانه‌ای از سنتز نانو ذرات مربوط می‌باشد.

۳-۲. سنتز $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ (core/shell)

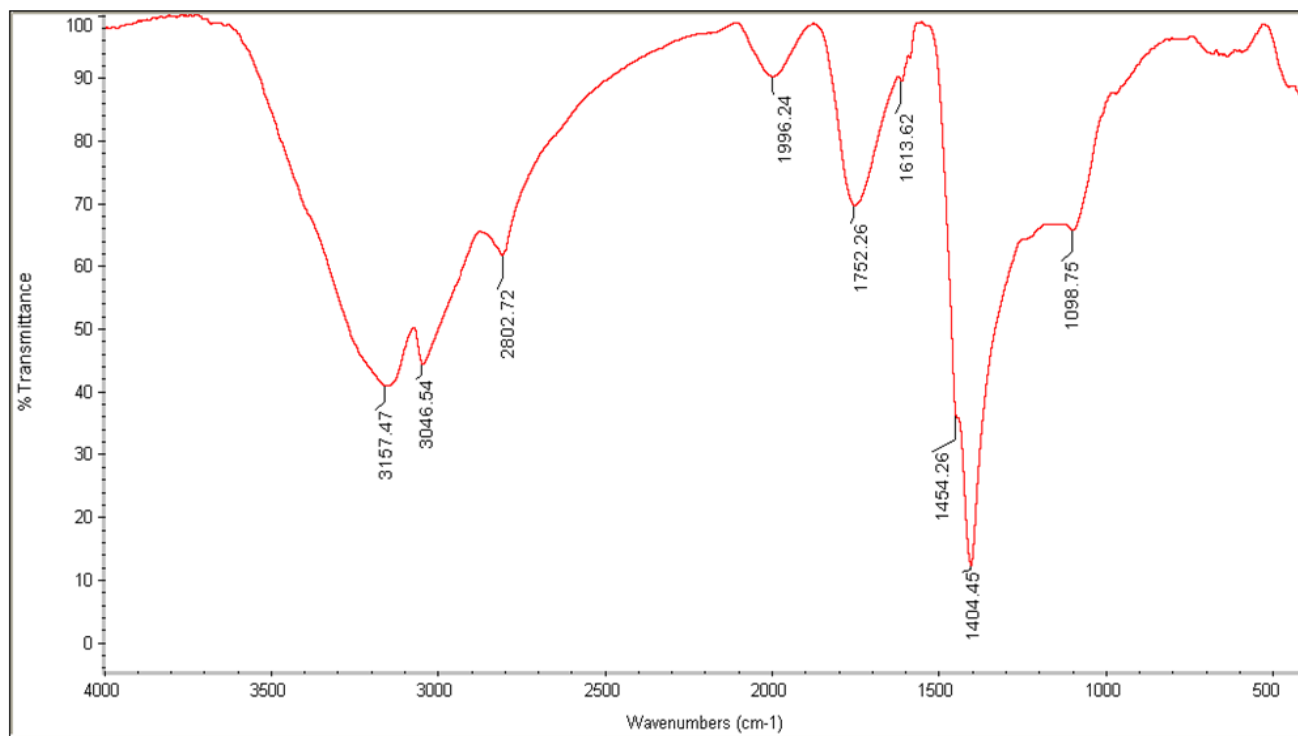
این مرحله طبق روش ارائه شده توسط عسگری و همکاران انجام شد [۷]. به یک بالن ۵۰۰ میلی لیتری، حاوی ۳۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶٪، ۴۰۰ میلی گرم از محصول مرحله اول (Fe_3O_4) اضافه شد. بالن در حمام التراسونیک در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و ۲۰ میلی لیتر آمونیاک قطره قطره به مخلوط واکنش اضافه شد. مخلوط واکنش حدود ۳۰ دقیقه در همین شرایط در حمام اولتراسونیک قرار گرفت و سپس مخلوط واکنش توسط همزن مکانیکی با دور ۱۰۰ شروع به همزدن شد و در این شرایط به مخلوط واکنش ۰/۸ میلی لیتر تترا اتیل ارتوسیلیکات (TEOS) قطره قطره اضافه شد و بعد از آن حدود ۳ ساعت دیگر در همان شرایط همزده شد. بعد از اتمام این زمان، بالن کنار گذاشته شد و با استفاده از یک آهن ربای خارجی، رسوب حاصل جدا شد. محصول سه بار با آب مقطر شستشو و سپس به مدت ۱۲ ساعت در آون خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا خشک شود و در نهایت توسط تکنیک طیف سنجی FT-IR مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۲).

شکل ۲. طیف FT-IR برای نمونه $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$

شکل (۲) طیف FT-IR مربوط به نانو ذرات $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ را نشان می‌دهد. در این طیف علاوه پیک شاخص Fe-O که در ناحیه $591/24 \text{ cm}^{-1}$ مشاهده می‌شود، پیک شاخص دیگری در ناحیه $1089/78 \text{ cm}^{-1}$ دیده می‌شود که مربوط به حرکات کششی پیوند Si-O-Si است که این نیز بیانگر این موضوع است که سطح نانوذرات Fe_3O_4 توسط SiO_2 پوشش داده شده است. پیک شاخص دیگری در ناحیه $3383/31 \text{ cm}^{-1}$ دیده می‌شود که مربوط به حرکات کششی پیوند O-H است.

۲-۴. سنتز $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{VTMOS}$

به یک بالن ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۵۰ میلی لیتر اتانول، ۲۰۰ گرم از نانو ذره پوشش داده شده با سیلیکا ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$) اضافه شد. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار گرفت و سپس توسط همزن مکانیکی شروع به همزدن شد. بعد از آن به مخلوط واکنش ۰/۵ میلی لیتر وینیل تری متوکسی سیلان (VTMOS) قطره قطره و هم چنین ۱۰ میلی لیتر محلول NH_4OH به آهستگی اضافه شد. واکنش ۸ ساعت در دمای اتاق با همزن مغناطیسی همزده شد و در نهایت برای اینکه رسوب ته نشین شود ۴۰ میلی لیتر اتانول به آن اضافه شد. رسوب حاصل با یک آهن ربای خارجی استخراج و چندین بار رسوب با متانول شستشو داده شد. رسوب نهایی به مدت یک شبانه روز در محلول هیدروکلریک اسید ۱ مولار قرار داده شد تا ذراتی که احتمالاً با سیلیکا پوشش داده نشده بودند جدا شوند. دوباره رسوب با یک آهن ربای خارجی جدا و در آون خلأ با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا خشک شود و در نهایت توسط تکنیک طیف سنجی FT-IR مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۳).

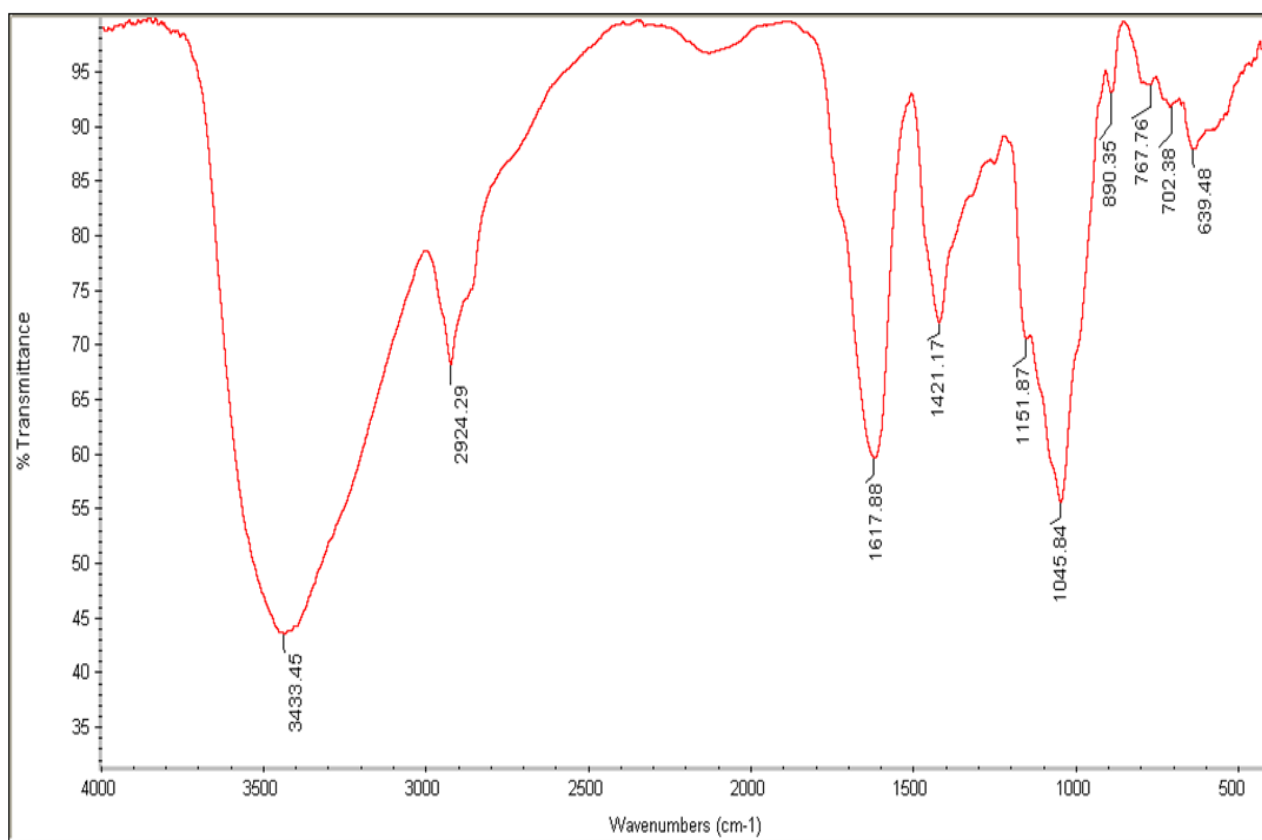


شکل ۳- طیف FT-IR برای نمونه $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{VTMOS}$

شکل (۳) طیف FT-IR مربوط به نانو ذرات $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{VTMOS}$ را نشان می‌دهد. علاوه بر پیک‌های 590 cm^{-1} و $1613/62\text{ cm}^{-1}$ دیده می‌شود که مربوط به Si-O-Si و FeO ، پیک شاخص دیگری نیز در ناحیه نزدیک $1613/62\text{ cm}^{-1}$ دیده می‌شود که مربوط به حرکات کششی پیوند H-C=C-H است و هم چنین $3046/54\text{ cm}^{-1}$ پیوند H-C=C-H وینیلی را مشاهده می‌کنیم. بنابراین با این مشخصات می‌توان نتیجه گرفت که گروه‌های وینیلی نیز روی سطح نانو ذرات قرار گرفته‌اند.

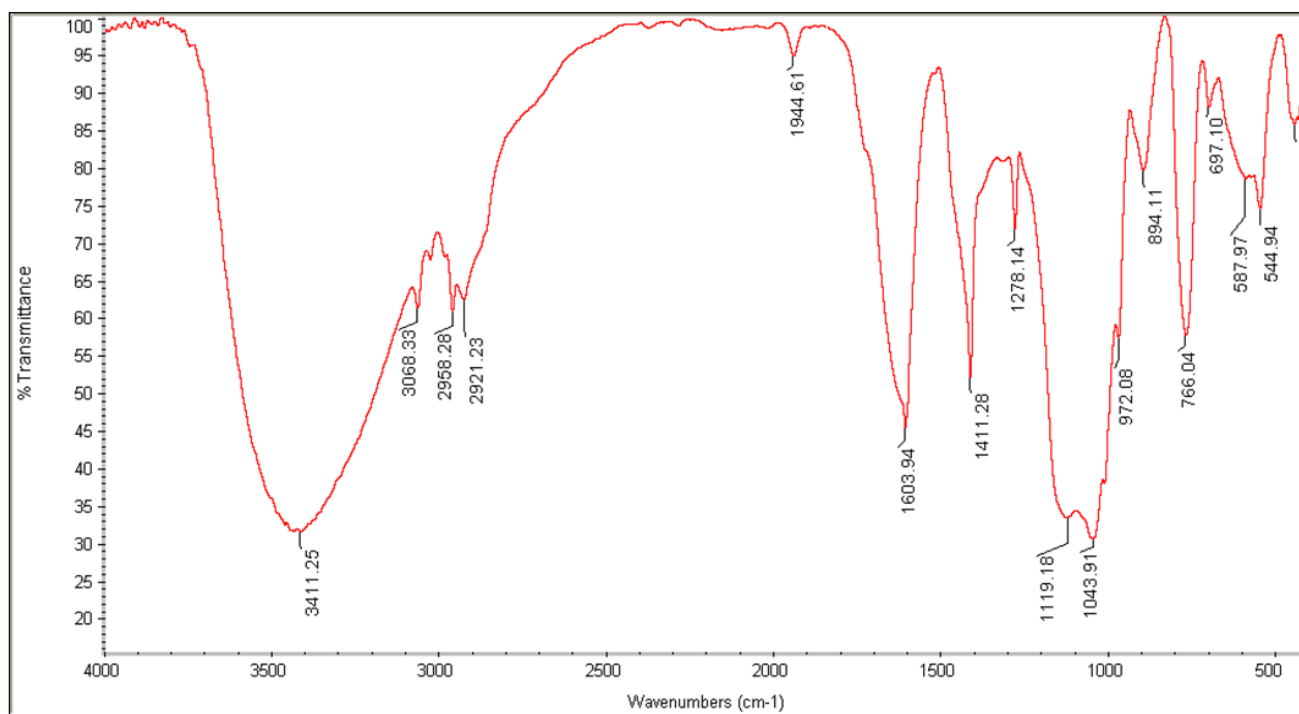
۲-۵. وینیل دار کردن مرو (تهیه CS@VTMOS)

در ابتدا ۲۰۰ گرم دانه مرو را در مقدار ۳ لیتر آب مقطر به مدت ۲ ساعت جوشاندیم بعد محلول را صاف کرده و به پلیت انتقال دادیم سپس در آون تحت دمای ۶۰ درجه قرار دادیم تا خشک شود بعد از گذشت ۱۲ ساعت نمونه را از آون بیرون آوردیم و صمغ دانه مرو را استخراج کردیم و بعد به یک بالن ۲۰۰ میلی لیتری دو دهانه مجهز به مبرد رفلاکس و ورودی و خروجی گاز آرگن و همزن مغناطیسی حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر، یک گرم دانه مرو اضافه شد. دمای واکنش در حین هم زدن به ۶۰ درجه سانتی گراد رسانده شد. بعد از حدود ۱۵ دقیقه قطره قطره ۱ میلی لیتر وینیل تری متوکسی سیلان (VTMOS) به مخلوط واکنش اضافه شد و به مدت یک ۲۴ ساعت مخلوط واکنش در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد تحت خلأ آرگون همزده شد. بعد از اتمام واکنش حلال واکنش توسط روتاری تبخیر و محصول در آون خلأ در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. محصول یعنی مرو وینیل دار شده توسط تکنیک طیف سنجی FT-IR مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۴ و ۵).



شکل ۴. طیف FT-IR برای نمونه مرو CS

طیف شکل ۴ نشان دهنده طیف IR نمونه مرو خالص می باشد. در محدود 45/3433 cm-1 پیک پهن مربوط به گروه های OH مشاهده شده است. و پیک محدوده 29/2924 cm-1 نشان دهنده C-H آلیفاتیک است.



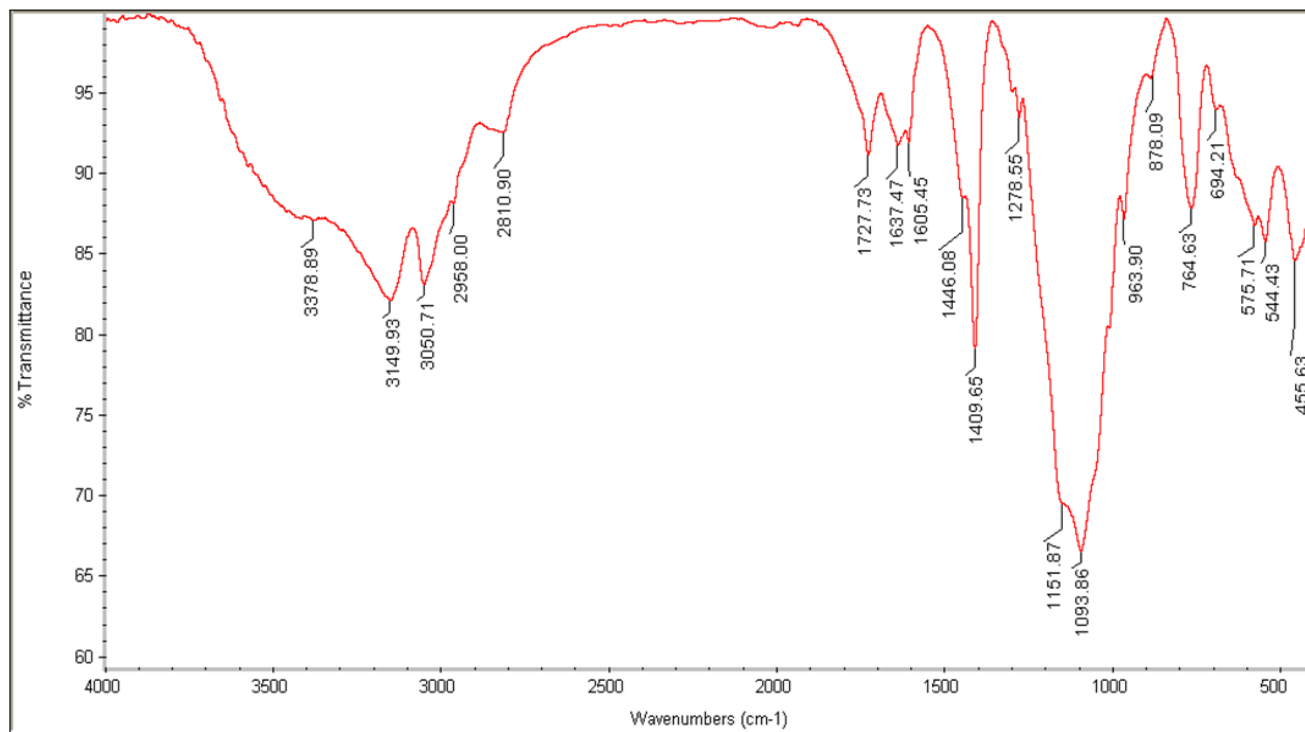
شکل ۵. طیف FT-IR برای نمونه مرو وینیل دار (CS@VTMSO)

در طیف ۵ که مربوط به نمونه مرو وینیل دار شده است، پیک موجود در $1063/94 \text{ cm}^{-1}$ نشان دهنده پیوند دوگانه کربن-کربن و پیک در محدوده $1043/91 \text{ cm}^{-1}$ نشان دهنده نوسانات اتصالات Si-O می باشد. پیک های محدودهای $2921/23 \text{ cm}^{-1}$ و $2958/28$ نشان دهندهی C-H های آلیفاتیک می باشند. پیک موجود در $3068/33 \text{ cm}^{-1}$ نشان دهندهی C-H وینیلی می باشد. ایجاد پیوند هیدروژنی بین وینیل تری متوکسی سیلان و موسیلاژ چیا به دلیل حضور پیک پهن ناحیه $3411/25 \text{ cm}^{-1}$ قابل توجه است.

۲-۶. سنتز نانوهیدروژل مرو ($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{VTMOS} @ \text{CS}$)

این مرحله واکنش با استفاده از روشی که توسط توسط قائمی و همکاران ارائه شده، انجام شد [۸]. برای انجام به یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۶۰ میلی لیتر کلروفرم، ۲۰۰ میلی گرم از محصول مرحله سوم ($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{VTMOS}$) اضافه شد. بشر حاوی مواد به مدت ۳۰ دقیقه در حمام التراسونیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از گذشت این زمان، ۰/۶ گرم از مرو وینیل دار شده ($\text{VTMOS} @ \text{CS}$) به همراه ۱۰۲ میکرولیتر (معادل ۰/۶ میلی مول) متاکریلیک اسید به محتویات ارلن اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه دیگر در حمام التراسونیک قرار داده شد. بعد از این مدت ۰/۲۳ میلی لیتر (۰/۶ میلی مول) اتیلن گلیکول دی متاکریلات (EGDMA) به عنوان کراس لینکر و ۲ میلی گرم آزو بیس ایزوبوتیل نیتریل (AIBN) به عنوان آغازگر پلیمریزاسیون به مخلوط واکنش اضافه شد. ارلن دوباره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تحت التراسونیک قرار گرفت. بعد از آن مخلوط واکنش از ارلن به بالن یک دهانه مجهز به مبرد رفلکس و ورودی و خروجی گاز آرگن منتقل شد. دمای مخلوط واکنش روی ۷۰ درجه سانتی گراد تنظیم و به مدت ۲۴ ساعت در این شرایط همزده شد. بعد از اتمام این زمان،

محصول با استفاده از یک آهن ربای خارجی جدا شد و چندین بار با مخلوط متانول-استیک اسید با نسبت حجمی ۱:۹ شستشو داده شد و در نهایت محصول توسط آون خلأ و در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد برای مدت ۱۲ ساعت خشک و توسط تکنیک طیف سنجی FT-IR و SEM مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۵-۶).



شکل ۶. طیف FT-IR برای نمونه نانوهیدروژل مرو (Fe₃O₄@SiO₂@VTMOS@CS)

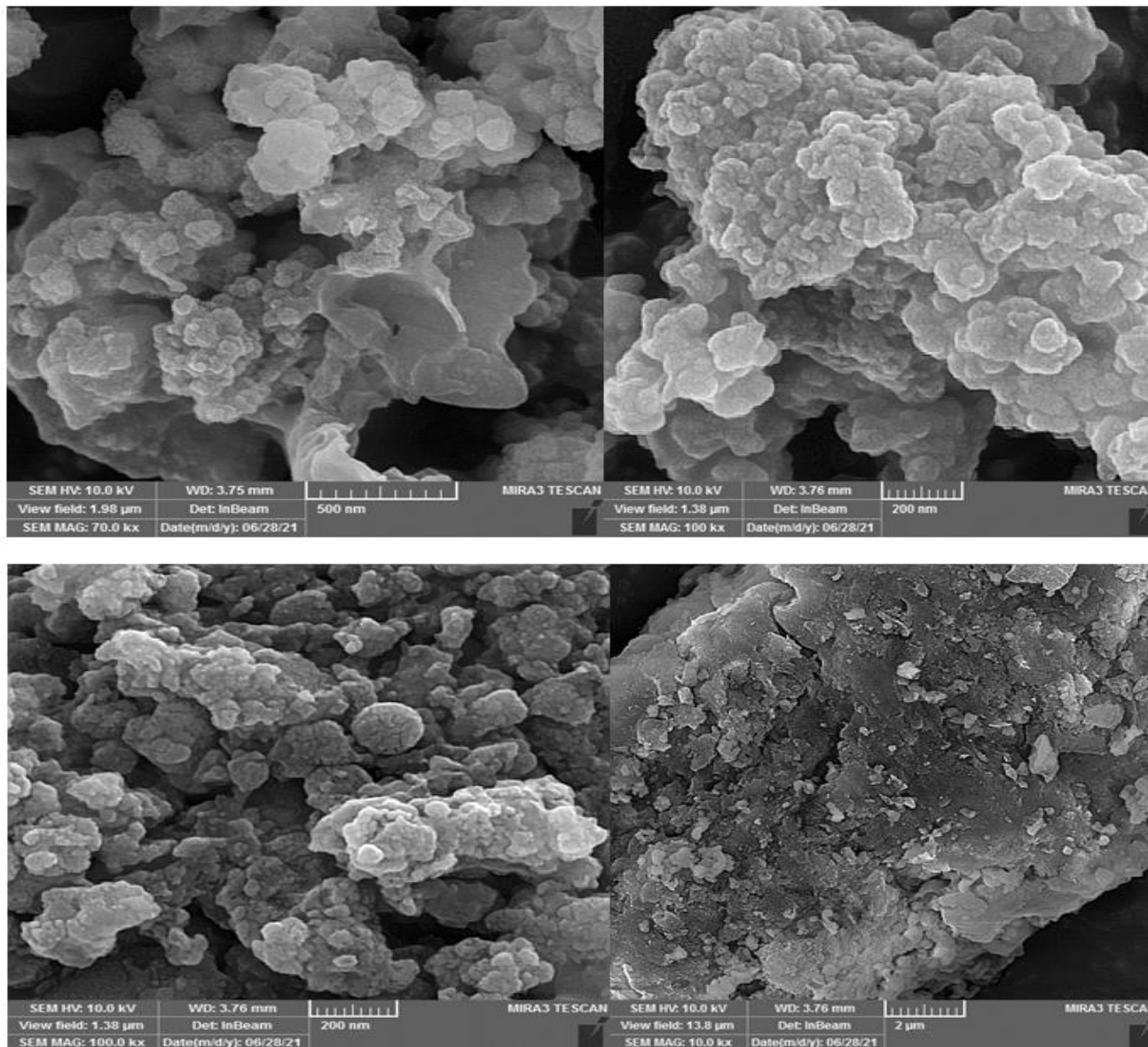
طیف شکل ۶ طیف FT-IR برای نمونه نانوهیدروژل مرو وینیل دار شده حاوی نانو ذرات آهن می باشد. پیک های موجود در ناحیه ۴۵۵/۶۳ cm⁻¹ و ۵۷۵/۷۱ cm⁻¹ نشان دهنده نوسانات پیوندهای Fe-O و Fe-O-Si و حضور نانو ذرات مغناطیسی آهن در نمونه هیدروژل می باشد. پیک محدوده ۱۷۲۷/۷۳ cm⁻¹ نشان دهنده ی گروه کربونیل است. پیک محدوده ۱۰۹۳/۸۶ cm⁻¹ مربوط به Si-O-Si می باشد و پیک ۲۹۵۸ cm⁻¹ مربوط به C-H های آلیفاتیک است. پیک محدوده ۳۳۷۸/۸۹ cm⁻¹ مربوط به گروه O-H است.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. بررسی نتایج شکل های SEM

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) یک تکنیک قدرتمند برای تشریح ویژگی های ریخت شناسی ساختارهای سنتز شده می باشد. شکل ۷ تصاویر SEM با بزرگ نمایی های مختلف را برای نانوهیدروژل مرو ساخته شده، نشان می دهد. تصویر الف، ب و ج مربوط به نمایش ساختار هیدروژل مرو در یک بزرگ نمایی بیشتر (۲۰۰ و ۵۰۰ نانومتر) است، در حالیکه ویژگی های ساختاری جزئی تر در تصویر الف با بزرگ نمایی کمتر (۲ میکرومتر)، نمایش داده می شوند. این تصاویر با بزرگ نمایی بیشتر آشکار می کنند

که ساختارهای سنتز شده، متشکل از ذرات و دانه‌های به هم بافته شده می‌باشند. وجود خلل و فرج در ساختار نشانه‌ای از توانایی این ترکیب جهت دریافت دارو و مواد دیگر می‌باشد.



۲-۳. رهایش دارو

ابتدا ۰/۳۵ گرم از KH_2PO_4 و ۰/۳۷ گرم از K_2HPO_4 را تهیه نموده و هرکدام را بصورت مجزا به حجم ۲۵ میلی لیتر می‌رسانیم سپس هر دو محلول را در یک بشر مخلوط کرده و بافر با pH حدود ۷ به دست می‌آید. حال مقداری سود ۲ مولار به آن اضافه شد تا pH محلول به ۷/۴ برسد. سپس در یک بالن کوچک ۲۵ میلی لیتری، ۰/۱ گرم از محصول مرحله قبل (هیدروژل حاوی دارو) قرار داده شد و ۱۰ میلی لیتر از بافر آماده شده به آن اضافه شد. بالن در حمام آب با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. مخلوط با همزن مغناطیسی هم زده شد. به تدریج با نفوذ بافر به درون هیدروژل، داروی بارگذاری شده در هیدروژل از آن جدا شد و به درون

محلول بافر نفوذ کرد. حال جهت اندازه گیری میزان رهایش دارو مثل مرحله بارگذاری، در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه و به مدت ۸۰ دقیقه، جذب UV محلول واکنش اندازه گیری می شود. مرحله بارگذاری و رهایش دارو با روش ارائه شده توسط زارزبکی و همکاران انجام شد [۹].

۳-۳. تورم هیدروژل

در یک بشر ۲۰۰ میلی لیتری، ۰/۱ گرم از هیدروژل مرو را قرار داده و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. بعد از گذشت ۳ ساعت، هیدروژل از ظرف خارج شد و روی کاغذ صافی ای که از قبل توزین شده بود قرار داده شد تا آب اضافی آن جدا شود و بعد از ۱۵ دقیقه قرار گرفتن در هوای اتاق، توزین انجام شد تا میزان تورم هیدروژل محاسبه شود (جدول ۳). هیدروژل ها به ابرجاذب ها معروف هستند که قابلیت زیاد جذب آب و سیال های آبی را دارند. نانوهیدروژل طبیعی دانه مرو نیز از این قاعده مستثنی نیست. بنابراین با قرار دادن آن در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت، میزان جذب آب توسط این نانوهیدروژل مورد آزمایش قرار گرفت. برای به دست آوردن درصد تورم از فرمول زیر استفاده می شود:

$$\text{water uptake (\%)} = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100$$

در این رابطه، W_s وزن هیدروژل متورم و W_d وزن هیدروژل خشک است. نتایج اندازه گیری میزان تورم نانوهیدروژل دانه مرو در جدول ۳ خلاصه شده است. همانطور که در این جدول مشاهده می شود، میزان تورم این نانوهیدروژل بسیار بالا است.

وزن نانوهیدروژل اولیه (گرم)	وزن نانوهیدروژل متورم شده + کاغذ صافی (گرم)	وزن خالص نانوهیدروژل متورم شده (گرم)	درصد جذب آب (درصد)
۰/۲	۴/۴۶	۳/۶۴	۱۷۲۰

جدول ۳. اطلاعات مربوط به تورم نانوهیدروژل مرو

۳-۴. بارگذاری دارو

یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری حاوی ۰/۰۱ گرم داروی ناپروکسن، توسط ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر قلیایی به حجم رسانده شد (برای حل شدن دارو در آب ابتدا به آب حدود ۲ میلی لیتر سود ۰/۱ مولار اضافه شد، بعد این آب قلیایی به بالن حاوی ناپروکسن اضافه شد) و با همزدن، دارو در آب حل شد. سپس در یک بشر ۵۰ میلی لیتری، ۰/۱ گرم نانوهیدروژل مرو ساخته شده در مرحله قبل قرار داده شد و به آن ۱۰ میلی لیتر از محلول داروی ناپروکسن اضافه شد. طول موج دستگاه UV را بر روی ۲۴۵ نانومتر تنظیم و جذب UV محلول بالای هیدروژل، در فواصل زمانی ده دقیقه و به مدت ۸۰ دقیقه، اندازه گیری شد. محصول یعنی (هیدروژل حاوی دارو)

را از محلول بالای آن جدا و با آب مقطر شستشو داده شد و سپس در آون خلأ در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. با توجه به خطی بودن رابطه بین جذب و غلظت داروی ناپروکسن، از تغییرات جذب دارو می‌توان به تغییرات غلظت پی برد. پس از اضافه کردن محلول دارو به نانو هیدروژل، با گذشت زمان، جذب دارو انجام شده و در نتیجه غلظت آن در محلول حاوی دارو و ژل کاهش یافت. به طوری که پس از گذشت ۲۴ ساعت، حدود ۹۰ درصد ناپروکسن جذب نانو هیدروژل شد. ضمناً برای محاسبه میزان جذب دارو در هیدروژل از فرمول زیر استفاده می‌شود.

$$Q_t = \frac{V(C_0 - C_t)}{W}$$

در این فرمول Q_t میزان جذب ناپروکسن در زمان t می‌باشد. C_0 و C_t به ترتیب غلظت ابتدایی و در زمان t ناپروکسن می‌باشد و W وزن هیدروژل می‌باشد.

۳-۵. بررسی رهایش دارو از هیدروژل

هنگامی که دارو به طرف مقصد حرکت می‌کند، نیاز است که به مقدار مناسب آزاد شده تا مؤثر واقع شود. اگر دارو سریع آزاد شود، ممکن است کاملاً جذب نشده یا حساسیت روده-معده و سایر عوارض جانبی را ایجاد کند. سرعت رهایش دارو از درون شبکه هیدروژل با سرعت نفوذ آب در آن ارتباط مستقیم دارد. بنابراین، افزایش سرعت نفوذ آب به درون شبکه هیدروژل، منجر به کاهش زمان رهایش دارو از آن می‌شود. با قرار گرفتن هیدروژل در بافر با pH برابر ۷/۴، محلول بافر به درون شبکه هیدروژل نفوذ کرده و دارو از آن آزاد می‌شود، بنابراین با گذشت زمان، غلظت دارو در بافر افزایش می‌یابد. و میزان رهایش دارو با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود.

$$\text{naproxen cumulative release (\%)} = \frac{\text{amount of released naproxen}}{\text{amount of adsorbed naproxen}} \times 100$$

میزان جذب ناپروکسن بارگزاری شده: ۲/۱۷۵۷

میزان جذب ناپروکسن آزاد شده بعد از ۲۴ ساعت: ۱/۳۸۶

درصد رهایش دارو بعد از ۲۴ ساعت: ۶۳/۷ درصد

۴. نتیجه گیری

هیدروژل‌ها، درشت مولکول‌های دارای ساختار سه‌بعدی شامل زنجیرهای خطی پلیمری با پیوندهای کووالانسی هستند که معمولاً به‌طور فیزیکی یا شیمیایی اتصال جانبی یافته‌اند. گروه‌های قطبی که روی زنجیرهای خطی پلیمر وجود دارند، موجب آب‌دوستی هیدروژل شده و پیوندهای عرضی، انحلال‌ناپذیری آن‌ها را سبب می‌شوند، این ترکیبات قابلیت تورم دارند. هیدروژل‌های پایه طبیعی به دلیل فراوانی، تجدیدپذیری، تنوع، ارزانی، سمی نبودن و زیست‌تخریب‌پذیری و زیست‌سازگاری از اهمیت زیادی برخوردارند. نانو هیدروژل‌های مغناطیسی، شبکه‌های پلیمری حاوی نانو ذرات مغناطیسی پراکنده شده در ماتریکس

پلیمر دارای اتصال عرضی هستند. انتقال هدفمند ترکیب مورد نظر از جمله ژن، دارو، سلول بنیادی، پروتئین و آنتی بادی به بافت و سلول هدف از مهم ترین کاربردهای نانوذرات مغناطیسی در علم پزشکی می باشد. صمغ دانه مرو به عنوان یک عامل فعال سطحی (امولسیفایر) در پایدارسازی سیستم های امولسیون و نیز به عنوان یک عامل تشکیل دهنده فیلم و پوشش دهنده (فیلم ها و پوشش های زیست تخریب پذیر خوراکی) در پوشش دهی انواع محصولات غذایی و دارویی شناخته شده است.

در این پژوهش، کامپوزیت های بر پایه نانو ذرات Fe_3O_4 پوشش داده شده با سیلیکاژل و اصلاح شده توسط گروه های وینیلی تهیه شد. نانوذره اصلاح شده با ژل دانه مرو واکنش داده شد تا پیوند کووالانس بین دو ترکیب برقرار شود. سپس داروی ناپروکسن به نانوهیدروژل نهایی اضافه شد. برای اطمینان از بارگذاری دارو از طیف سنجی UV-Vis استفاده شد. بعد از آن مرحله رهایش دارو نیز مورد آزمایش قرار گرفت و دوباره از طیف سنجی UV-Vis بهره گرفته شد. همچنین برای شناسایی نانو ذرات اصلاح شده از طیف سنجی FT-IR استفاده شد. مورفولوژی سطح و نحوه پخش شدگی نانو ذرات در نانوهیدروژل دانه مرو نیز با استفاده از تکنیک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت. با قرار دادن آن در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت، میزان جذب آب توسط این نانوهیدروژل مورد آزمایش قرار گرفت که مشاهده شد میزان تورم این نانوهیدروژل بسیار بالا است. سرعت رهایش دارو از درون شبکه هیدروژل با سرعت نفوذ آب در آن ارتباط مستقیم دارد. با قرار گرفتن هیدروژل در بافر با pH برابر ۷/۴، محلول بافر به درون شبکه هیدروژل نفوذ کرده و دارو از آن آزاد می شود.

۵. مراجع

- [۱] مظفریان، ولی ا...، شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۳۹۴، انتشارات فرهنگ معاصر، تهران.
- [2] Kharazian, N. (2008). A New Variety of *Salvia macrosiphon* (Lamiaceae) for Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(3), 1173-1175.
- [3] Chin, k. B., (2000). Functional properties of heat-induced gels prepared with salt soluble proteins, non-meat proteins and hydrocolloids in a model system, *Food sci, biotec*, 9(6), 368-371
- [4] Ichikawa, H., & Fukumori, Y., (2007). Design of nanohydrogel-incorporated microcapsules for appropriate controlled –release of peptide., *Drugs, yakugaku Zasshi*, 127(13), 813-823.
- [5] Amin, S., Rajabnezhad, S., & Kohli, K., (2009). Hydrogels as potential Drug Delivery system, *Scientific Research and Essay*, 3(1), 1175-1183.
- [6] Faraji M, Yamini Y, Rezaee M. (2010). Magnetic nanoparticles: synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and applications. *J Iran Chem Soc*. 7, 1–37.
- [7] Asgari S., Fakhari Z., Berijanic S. (2014). Synthesis and Characterization of Fe_3O_4 Magnetic Nanoparticles Coated with Carboxymethyl Chitosan Grafted Sodium Methacrylate, *JNS* 4, 55-63.
- [8] Ghaemy, M., & Naseri, M., (2012), Synthesis of chitosan network; swelling, drug release, and magnetically assisted BSA separation using Fe_3O_4 nano particles, *Carbohydrate polymer*, 90(11), 1265-1272.
- [9] Zarzycki, R., Modrzejewska, Z., & Nawrotek, K., (2010). Drug release from hydrogel matrices, *Ecological Chemistry and Engineering S.*, 17(2), 61-79.

Characterization of nano-biohydrogel synthesized on the basis of *Salvia macrosiphon* boiss seed's hydrogel with spectroscopic methods and evaluation of swelling and drug delivery with changes in temperature and pH

Homa Koushki, Mohammad Mehrshad*¹, Hashem Akhlaghi

Department of Chemistry, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

Submitted: 02 July 2021, Revised: 17 November 2021, Accepted: 06 December 2021

Abstract

The aim of this study was to produce bio-nano-hydrogels based on *Salvia macrosiphon* boiss seed's gum and to evaluate its swelling and drug delivery with changes in temperature and pH. In this research, composites based on Fe₃O₄ nanoparticles coated with silica gel and modified by vinyl groups were prepared. The modified nanoparticles were reacted with wild sage's seed gel to establish a covalent bond between the two compounds. Naproxen was then added to the final nanohydrogel. UV spectroscopy was used to ensure drug loading. After that step, drug release was also tested by using UV spectroscopy. FT-IR spectroscopy was also used to identify the modified nanoparticles. The surface morphology and dispersion of nanoparticles in wild sage seed's nanohydrogel were also investigated using SEM scanning electron microscopy technique. By placing the hydrogel in a buffer with a pH of 7.4, the buffer solution penetrates into the hydrogel network and the drug is released from it. Absorption rate of naproxen released after 24 hours was 1.386 and drug release percentage after 24 hours was 63.7%.

Keywords: Bio nano-hydrogel, wild sage seed's gum, swelling and drug delivery, temperature changes, pH.

*Corresponding author : Mohammad Mehrshad

Address: Department of Chemistry, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

Tel: 05141442525

E-mail: mohammad.mehrshad@iaus.ac.ir