

## بررسی سینتیک‌های رهایش فتوحسگر نوری قوی هایپریسین از نمد نانولیفی پلی-ε-کاپرولاکتون

فائقه پورحجت<sup>۱</sup>، محمودرضا سهرابی<sup>۲\*</sup> و شهاب شریعتی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکترای شیمی کاربردی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

۲- استاد شیمی تجزیه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

۳- دانشیار شیمی تجزیه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، دانشکده علوم پایه، رشت، ایران

دریافت: فروردین ۱۳۹۶، بازنگری: آذر ۱۳۹۶، پذیرش: دی ۱۳۹۶

**چکیده:** سامانه‌های دارورسان پوست با رهایش کنترل شده وسیله مناسبی برای انتقال ترکیبات دارویی به صورت موضعی به لایه‌های آسیب دیده و سالم هستند. این پوشش‌ها به‌ویژه برای بهبود زخم در مواردی کاربرد دارد که بیشتر به درمان‌های طولانی مدت و تعویض مکرر پوشش زخم نیازمند است. در این مطالعه، با توجه به ویژگی برتر نانولیف، نسبت سطح به حجم بالا، از فناوری الکترورسی برای ساخت پوششی با ویژگی درمان فتودینامیکی ضد میکروبی با استفاده از بسپارهای زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیری همچون پلی (ε-کاپرولاکتون (PCL) بهره گرفته شد. شرایط بهینه فرایند الکترورسی) ولتاژ، دبی خوراک، فاصله نازل تا جمع کننده، برای تهیه نانولیف متشکل از ۱۰،۳۰،۵۰ درصد حجمی/حجمی عصاره نسبت به بسپار که به اختصار با PCL-En نشان داده شده است، به صورت ولتاژ ۱۲kV برای نانولیف PCL و PCL-E<sub>50</sub> و ۲۰kV برای PCL-E<sub>10</sub> و PCL-E<sub>30</sub>؛ دبی جریان ۰،۱ml/h برای PCL و PCL-E<sub>30</sub> و ۰،۵ml/h برای PCL-E<sub>10</sub> و PCL-E<sub>30</sub> و فاصله ۱۰۰ mm برای تمام نانولیف PCL و PCL-En به دست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** الکترورسی، نانولیف بسپاری، آنتی‌باکتریال، آزمون رهایش، پلی (ε-کاپرولاکتون)

### مقدمه

(پماد، کرم و عصاره) مفید است. در این پژوهش با بهره‌گیری از ویژگی‌های درمانی عصاره گیاه علف چای<sup>۱</sup> (که بیشتر به St John's Wort معروف است) و قابلیت تولید نانولیف بسپاری با روش الکترورسی، پوشش جدیدی تهیه و عملکرد این نمد نانولیفی زیست‌تخریب‌پذیر جدید، در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. یک روش کنترل عفونت‌های موضعی، درمان

با مقاومت روزافزون باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به داروهای آنتی‌بیوتیک مانند متیسیلین، و نکومایسین و ... پژوهشگران در پی یافتن ترکیب‌ها و داروی جدیدی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های غیرمؤثر هستند. استفاده از گیاه با ویژگی ضد میکروبی در قالب پوشش ضدباکتری در قیاس با سایر روش‌های استفاده از گیاه

1. Hypericum perforatum

هستند [۱۲]. به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد بستر نانوفیبری، نسبت سطح به حجم بالای نانوالیاف، از این ساختار نسبت به سایر پوشش‌ها مانند هیدروکلونیدها، هیدروژل‌ها و غیره استفاده بیشتری می‌شود [۱۳ و ۱۴]. پوشینه‌داری سازی دارو درون نانوالیاف سبب ایجاد سامانه‌های رهایش کارآمدتر، کاهش عوارض جانبی و سمیت بهبود یافته می‌شود [۱۵ و ۱۷]. نانوالیاف مشکل‌های مرتبط با استفاده از نانوذرات را کاهش می‌دهند. نانوذرات می‌توانند متراکم شوند و حالت خوشه‌ای به وجود آورند، در حالی که نانوالیاف مش‌ها را شکل می‌دهند که حتی پس از احیا دست‌نخورده باقی می‌ماند [۱۸]. گیاه علف چای قدمت تاریخی بیش از ۲۴۰۰ سال دارد و شهرت آن به‌عنوان بهبوددهنده زخم پیش از قرن ۱۵ میلادی است. یک روش کنترل عفونت‌های موضعی، درمان فتودینامیکی ضد میکروبی است [۱]. عملکرد (سیستمیک و موضعی) فتوحسگر که یک ماهیت درمانی است بر اساس فعال‌سازی با نور انجام می‌شود [۱۹ و ۲۰]. هایپریسین<sup>۴</sup> یک فتوحسگر قوی و طبیعی است که به‌عنوان ماده مؤثر گیاه علف چای شناخته شده و پاره‌ای از ویژگی‌های آن مانند ویژگی ضد ویروسی و ضد میکروبی گیاه به آن نسبت داده شده است. اگرچه، آب‌گریزی هایپریسین برای کاربردهای درمانی را محدود می‌کند. بنابراین، در تلاشیم برای هایپریسین که جزء مؤثر گیاه با ویژگی ضد میکروبی است یک حامل زیست‌تخریب‌پذیر با ویژگی اثربخشی بهتر نسبت به سایر اشکال مصرفی آن تهیه کنیم. با وجود پیشرفت در APDT، نانومواد مهندسی با رگیری شده با PS همچنان تحت ارزیابی در آزمایشگاه بوده و به‌ندرت در کاربردهای درمان زخم به کار می‌روند. برای مثال، اثبات شد که نانوذرات پلی لاکتیک کوگلاکولیک اسید حاوی هایپریسین، کشتن باکتری آزمایشگاهی و درمان زخم‌های عفونی در موش‌های صحرایی را بهبود می‌بخشد [۸]. هر چند ریشه‌کن کردن میکروبی تنها فاکتور شتاب‌دهنده‌ی درمان زخم نیست و بازسازی سلول‌ها با استفاده از ارتقادنده‌ی ترمیم زخم از اهمیت برابر برخوردار است [۹]. اثبات شد که چنین داربست‌های متخلخلی با مساحت ویژه‌ی زیاد ترمیم زخم را با فعالیت همزمان به‌عنوان الگو برای تکثیر سلولی و انتقال کنترل شده عوامل ضد میکروبی و یا عوامل رشد بهبود می‌بخشند [۱۰ و ۱۱]. روش الکتروریسی ویژگی‌های خاصی نسبت به روش‌های متعارف دارند زیرا ساختارهای نانوالیاف بسیار شبیه بستر خارج سلولی<sup>۲</sup>

فتودینامیکی ضد میکروبی<sup>۱</sup> است [۱]. فتوحسگر یک ماهیت درمانی است که بر اساس عملکرد (سیستمیک و موضعی) یک فتوحسگر<sup>۲</sup> است که از طریق فعال‌سازی با نور انجام می‌شود. بیشترین ویژگی‌های پزشکی مورد بررسی قرار گرفته APDT محدود به عفونت‌های موضعی در دندانپزشکی و پوست [۲ تا ۴]، ارائه PS ها با استفاده از نانومواد مهندسی شده فعالیت فتودینامیکی را به‌طور چشمگیری بهبود بخشید. به‌کارگیری فتوحسگر در نانوساختارها منجر به غلظت PS موضعی بالاتر با تولید O<sub>2</sub> مؤثر بیشتر، هدف‌گیری پیشرفته‌تر با فعال‌سازی نوری افزون‌بر تابش چندگانه ممکن شد. هایپریسین یک فتوحسگر قوی و طبیعی است که به‌عنوان ماده مؤثره‌ی گیاه علف چای شناخته شده و پاره‌ای از ویژگی‌های آن مانند ویژگی ضد ویروسی و ضد میکروبی گیاه به آن نسبت داده شده است. اگرچه، ویژگی آب‌گریزی آن کاربردهای درمانی را محدود می‌کند. بنابراین، در تلاشیم برای هایپریسین که جزء مؤثر گیاه با ویژگی ضد میکروبی است یک حامل زیست‌تخریب‌پذیر با ویژگی اثربخشی بهتر نسبت به سایر اشکال مصرفی آن تهیه کنیم. با وجود پیشرفت در APDT، نانومواد مهندسی با رگیری شده با PS همچنان تحت ارزیابی در آزمایشگاه بوده و به‌ندرت در کاربردهای درمان زخم به کار می‌روند. برای مثال، اثبات شد که نانوذرات پلی لاکتیک کوگلاکولیک اسید حاوی هایپریسین، کشتن باکتری آزمایشگاهی و درمان زخم‌های عفونی در موش‌های صحرایی را بهبود می‌بخشد [۸]. هر چند ریشه‌کن کردن میکروبی تنها فاکتور شتاب‌دهنده‌ی درمان زخم نیست و بازسازی سلول‌ها با استفاده از ارتقادنده‌ی ترمیم زخم از اهمیت برابر برخوردار است [۹]. اثبات شد که چنین داربست‌های متخلخلی با مساحت ویژه‌ی زیاد ترمیم زخم را با فعالیت همزمان به‌عنوان الگو برای تکثیر سلولی و انتقال کنترل شده عوامل ضد میکروبی و یا عوامل رشد بهبود می‌بخشند [۱۰ و ۱۱]. روش الکتروریسی ویژگی‌های خاصی نسبت به روش‌های متعارف دارند زیرا ساختارهای نانوالیاف بسیار شبیه بستر خارج سلولی<sup>۲</sup>

ویژگی ضد میکروبی است، این پژوهش شکل گرفت [۲۱]. سینتیک رهایش دارو با طبیعت نیم‌بلوری بسپارها و همچنین به دلیل ریخت بسیار چندسازه دارو کنترل می‌شود. سه مدل ریختی [۲۲] برای نانوالیاف بسپاری بارگذاری شده با دارو (یا ذرات بسپاری) نخستین بار توسط ورک<sup>۵</sup> و کیسل<sup>۶</sup> [۲۳ و ۲۴] پیشنهاد شد:

الف) دارو در بستر بسپاری در سطح مولکولی حل می‌شود.  
ب) دارو در بستر بسپاری به‌صورت ذرات آمورف یا بلوری توزیع می‌شود.  
پ) داروی درون بستر بسپاری، یک هسته داروی پوشینه‌دار

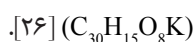
1. Antimicrobial photodynamic therapy (APDT) 2. Photosensitizer (PS) 3. Extracellular matrix (ECM) 4. Hypericin  
5. Verreck 6. Kissel

دی کلرومتان: دی متیل فرمامید، سورفکتانت تریتون X-100 و نمک پتاسیم هیدروژن فسفات ( $\text{HK}_2\text{PO}_4$ ) از شرکت مرک آلمان و عصاره اتانولی گیاه علف چای از شرکت گیاهان دارویی زردبند تهیه شد.

#### تهیه و الکترورسی محلول های بسیاری

در ابتدا برای تهیه محلول بسیاری PCL با غلظت ( $\sqrt{W/V}$ )، ۰٫۷ گرم از بسیار در ۱۰ ml سامانه دوجزئی حلال، دی کلرومتان: دی متیل فرمامید با نسبت ۸۰:۲۰ که با روش آزمون و خطا به دست آمده بود، حل شد و به مدت ۲ ساعت محلول روی همزن مغناطیسی در دمای اتاق قرار گرفت تا محلول یکنواختی به دست آید.

از محلول های پلی کاپرولاکتون ( $W/V$  ۷٪) محلول هایی با نسبت های متفاوت حجمی از عصاره گیاهی تهیه شد. در این مرحله برای بررسی اثر حجم مصرفی عصاره گیاهی بر قطر نانوالیاف و تأثیر تفاوت قطر نانوالیاف به دست آمده بر رهایش ماده مؤثر آن (هایپرین) محلول های بسیاری با درصدهای ( $W/V$  ۱۰، ۳۰، ۵۰٪) از عصاره گیاهی مخلوط شدند. در محلول ها مقدار تریتون X-100 ( $3V/V$ ٪) بود. به دلیل تشکیل دو فاز در مرحله تهیه مخلوط بسیاری همگن از سورفکتانت غیر یونی تریتون X-100 بهره گرفته شد. همچنین، در ادامه برای بهبود رسانایی الکتریکی محلول های بسیاری حاوی عصاره گیاهی از نمک پتاسیم هیدروژن فسفات به مقدار ۰٫۱۵۶ (معادل  $W/V$  ۰٫۷۸٪) کل مخلوط، افزوده شد و با تغییر متغیرهای دستگاهی تأثیرگذار بر الکترورسی، ساختار عاری از گره<sup>۵</sup> یا با گره های کمتر به دست آمد. علت استفاده از نمک پتاسیم به دلیل قابلیت انحلال بهتر نمک پتاسیم هایپرین (ماده مؤثره) گیاه علف چای در آب بود



تهیه الیاف الکترورسی شده

پس از تهیه محلول بسیاری ( $W/V$  ۷٪)، محلول های به طور

شده را تولید می کند که با لایه بسیاری محصور می شود (مشابه مخزن).

مدل های نظری، سینتیکی، حل شدن دارو از شکل های مصرفی رهایش فوری و اصلاح شده را شرح می دهد. در معادله های ۱ تا ۴ مدل های ریاضی برای سازوکار رهایش دارو به صورت تابعی از متغیر شکل مصرفی دارو ارائه شده است.

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (1) \text{ (مدل مرتبه صفر)}$$

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t \quad (2) \text{ (مدل مرتبه ۱)}$$

$$Q_0^{1/3} = K_2 t Q_t^{1/3} \quad (3) \text{ (هیگسول - کروول)}$$

$$Q_t = K_H \sqrt{t} \quad (4) \text{ (هیگوچی)}$$

که در آن ها،  $Q_t$  مقدار داروی حل شده در زمان  $t$ ،  $Q_0$  مقدار دارو در زمان شروع که بیشتر برابر با صفر است.  $K_0$  ثابت رهایش مدل مرتبه صفر،  $K_1$  ثابت رهایش مدل مرتبه اول،  $Q_\infty$  مقدار داروی رها شده تحت زمان بی نهایت،  $K_2$  ثابت رهایش مدل مرتبه دوم،  $K_3$  ثابتی است که به نسبت سطح - حجم بستگی دارد [۲۵]. مدل های رهایش با بیشترین کاربرد و بهترین شیوه شرح مکانیسم رهایش دارو، شامل مدل هیگوچی، مدل مرتبه صفر<sup>۳</sup> و مدل کورزمیر - پیاس<sup>۴</sup> است. مدل کورزمیر - پیاس یک گزینه حد وسط بین مدل های هیگوچی و حالت صفر در انتقال و پدیده رهایش دارو می تواند باشد. در حالی که مدل هیگوچی کاربرد وسیعی در رهایش از بستر بسیاری دارد، مدل مرتبه صفر برای شرح فرم های مصرفی پوششی و یا شکل های مصرفی کنترل شده سطحی، ایده آل است.

#### بخش تجربی

مواد و روش ها

بسیار پلی کاپرولاکتون (PCL) با وزن مولکولی ۸۰۰۰۰ دالتون و چگالی ۱٫۱۴۵ g/ml خریداری شده از شرکت سیگما آلدریج، حلال

1. Hixson-Crowell

2. Higuchi

3. Zero order

4. Korsmeyer-Peppas

5. Bead

### طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه<sup>۲</sup>

طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه یکی از مهم‌ترین روش‌های طیف‌نگاری به‌منظور بررسی شیمیایی سطح نانوالیاف و تعیین پیوندهای موجود در ترکیب و همچنین بررسی تأثیر تغییرات اعمال‌شده بر ساختار بسیار از طریق بررسی پیک‌های موجود در طیف IR است. از آنجایی که گروه‌های عاملی در یک فرکانس خاص در فروسرخ جذب نشان می‌دهند لذا از این دستگاه برای بررسی وجود یا عدم وجود یک یا چند گروه عاملی خاص در یک ترکیب استفاده می‌شود. در این روش نمونه‌ها با روش قرص KBr و دستگاه پرس به‌صورت قرص شفاف به ضخامت ۰/۲۵ mm تهیه‌شده و سپس با دستگاه فروسرخ تبدیل فوریه (FT-IR) مدل Equinox55 ساخت شرکت Bruker کشور آلمان و تحت آزمایش استاندارد AstmE1252 طیف‌ها ثبت شدند. طیف‌سنجی FT-IR از داربست‌های نانوفیبری در گستره ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ cm<sup>-1</sup> انجام شد.

### مطالعه رهایش و بررسی سینتیک رهایش عصاره گیاهی علف چای از نم‌نانولیفی با روش طیف‌نورسنجی

در فرایند آزادسازی دارو، به‌منظور دستیابی به طول‌موج مناسب، باید غلظتی از عصاره گیاهی خشک‌شده را به‌عنوان نمونه استاندارد برای رسم منحنی واسنجی<sup>۴</sup> تهیه کرد که بر اساس آن بتوان آزمون رهایش را انجام داد. به‌بیان‌دیگر، نم‌های نانولیفی حاوی عصاره الکلی باید در بافر فسفات نمکی<sup>۵</sup> حل و با استفاده از دستگاه جذب در طول‌موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر روبش شود. از دستگاه طیف‌سنج مرئی-فرابنفش (UV-Vis) (مدل ModelUV2401، شرکت Mapada ساخت چین) برای خواندن جذب نمونه در ۵۸۷nm که طول‌موج حداکثر مربوط به ماده مؤثره هایپریسین است، استفاده شد. تمام آزمون‌های رهایش عصاره گیاهی بر اساس قرائت جذب در  $\lambda_{max}$  مربوط به هایپریسین انجام شد.

### رسم منحنی استاندارد

برای به‌دست آوردن منحنی واسنجی استاندارد، ۲۵ml

کامل حل‌شده در یک سرنگ پلاستیکی ۱۰ml ریخته شد و به سرنگ یک سوزن فلزی ۱۵ درجه<sup>۱</sup> متصل شد. هوای داخل سرنگ و سوزن با فشاردادن محلول به‌طور کامل خارج شد. سیم منبع ولتاژ بالا که تأمین‌کننده ولتاژ مثبت است به نوک سوزن متصل شد. ولتاژ اعمالی بین ۱۰ تا ۲۵ kV تنظیم شد. از دستگاه الکترورسی پمپ سرنگی مدل SP1000HOM، شرکت فناوران نانومقیاس ساخت ایران برای این منظور استفاده شد. فاصله بین نوک سوزن تا فویل جمع‌کننده متصل به زمین بین ۱۰۰ تا ۲۰۰mm تنظیم شد و الکترورسی در دمای اتاق انجام گرفت. جمع‌کننده در این مرحله شامل صفحه تخت چوبی پوشیده شده با فویل آلومینیومی است که به‌عنوان جمع‌کننده ثابت استفاده شد. غشاهای فیبری PCL با روش الکترورسی تهیه شدند. الیاف PCL-Ex با ۱۰،۳۰ و ۵۰ (V/V)٪ از عصاره گیاهی با روش الکترورسی محلول مخلوط به‌دست آمدند. میانگین قطر الیاف با استفاده از نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد و در ادامه، الیاف به‌دست آمده از الکترورسی به‌عنوان PCL-En که در اینجا n مقدار درصد حجمی عصاره گیاهی موجود است، کدگذاری شدند. الکترورسی محلول‌ها برای رسیدن به شرایط ایده‌آل و بهینه در شرایط متفاوت بررسی شد که در ادامه به آن‌ها اشاره می‌شود.

### روش‌های بررسی ریخت و ویژگی‌های نانوالیاف سنتزی

ریخت و قطرالیاف الکترورسی‌شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۴</sup> (VEGA, TESCAN Co, England) بررسی شدند. همه نمونه‌ها با یک‌لایه نازک طلا برای افزایش رسانایی به روش لایه‌نشانی، پوشش داده شدند. برای این کار از دستگاه Mod K450X, EMTECH ساخت انگلستان، استفاده شد. قطر الیاف با استفاده از نرم‌افزار Image J برای ۱۰۰ نقطه متفاوت از الیاف اندازه‌گیری و با استفاده از آن، میانگین و انحراف معیار (std) و ضریب تغییرات (%CV) محاسبه شدند. معنی‌داربودن مقایسه میانگین‌ها با تحلیل واریانس داده (One way- ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶، انجام شد.

1. Gauge 2. Scanning Electron Microscopy (SEM) 3. FT-IR Spectroscopy 4. Calibration 5. Phosphate Buffered Saline (PBS)

بر اساس وزن اولیه داروی بارگیری شده در نمدهای الکترورسی، تعیین شد.

از طرفی برای اصلاح رقت برداشته شده (۲ml) از محیط رهایش از معادله اصلاح غلظت بهره گرفته شد.

$$C'_n = C_n(V_T / (V_T - V_S))(C'_{n-1} / C_{n-1}) \quad (1)$$

که در آن  $C'_n$  غلظت اصلاح شده نمونه  $n$  ام بر حسب mg/l و  $C_n$  غلظت اندازه گیری شده هایپرپرسین نمونه  $n$  ام بر حسب mg/l و  $C_{n-1}$  غلظت اندازه گیری شده نمونه  $(n-1)$  ام بر حسب mg/l و  $V_T$  حجم محیط رهایش اولیه (کل) بر حسب ml و  $V_S$  حجم محیط رهایش (بافرفسفات نمکی) برداشته شده که در هر بار اندازه گیری جذب، مقدار آن ۲ml است [۲۷].

بررسی سینتیک رهایش هایپرپرسین از نمده نانولیفی  $PCL-E_n$  برای بررسی سازوکار رهایش هایپرپرسین از نمدهای نانولیفی، نمودار رهایش تجمعی بر اساس چهار مدل فیکیان<sup>۱</sup> مرتبه صفر، مرتبه یک، هیگوجی و هیگوسون کروول بررسی شد. بنا بر نتایج تخریب طولانی مدت، بستر بسپاری به علت آب گریز بودن بسپار زیست تخریب پذیر پلی کاپرولاکتون، نقش اصلی در رهایش هایپرپرسین ندارد. انتقال از طریق روزنه های بستر بسپاری است و رهایش داروی حل شده به دلیل زیست تخریب پذیری آهسته بسپار یا فرسایش لایه های سطحی است. سطح بالای رهایش اولیه احتمالاً ناشی از انتشار هایپرپرسین قرار گرفته روی سطح الیاف و جذب سطحی محلول نمکی بافر فسفات بوده که با مدل هیگوجی تطبیق داشته و لذا به دلیل تخریب طولانی مدت بسپار سازوکار رهایش با مدل هیگوسون کروول تطبیق ندارد. افزون بر آن، ضریب همبستگی برای سرعت های متفاوت رهایش دارو از نمدهای متفاوت انطباق نسبی با مدل مرتبه صفر را شرح می دهد که این مدل مربوط به رهایش داروهای کم محلول به درون محیط رهایش است.

عصاره گیاهی خشک شده با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۶۰۰۰ mg/l در محلول نمکی بافر فسفات تهیه شد. جذب محلول ها در طول موج ۵۸۷nm در مقابل شاهد محلول نمکی بافر فسفات با استفاده از دستگاه UV-Vis خوانده شد. بدین ترتیب ارتباط بین جذب و غلظت محلول های استاندارد به دست آمد و سپس منحنی واسنجی رسم شد. معادله رابطه به دست آمده بین محلول و غلظت عصاره خشک شده در محلول نمکی بافر فسفات را نشان می دهد.

$$Y = 8 \times 10^{-5} X + 0.0021 \quad (1)$$

که در آن  $Y$  جذب خوانده شده در طول موج ۵۸۷nm و  $X$  غلظت عصاره خشک شده بر حسب mg/l است.

#### مطالعه رهایش هایپرپرسین

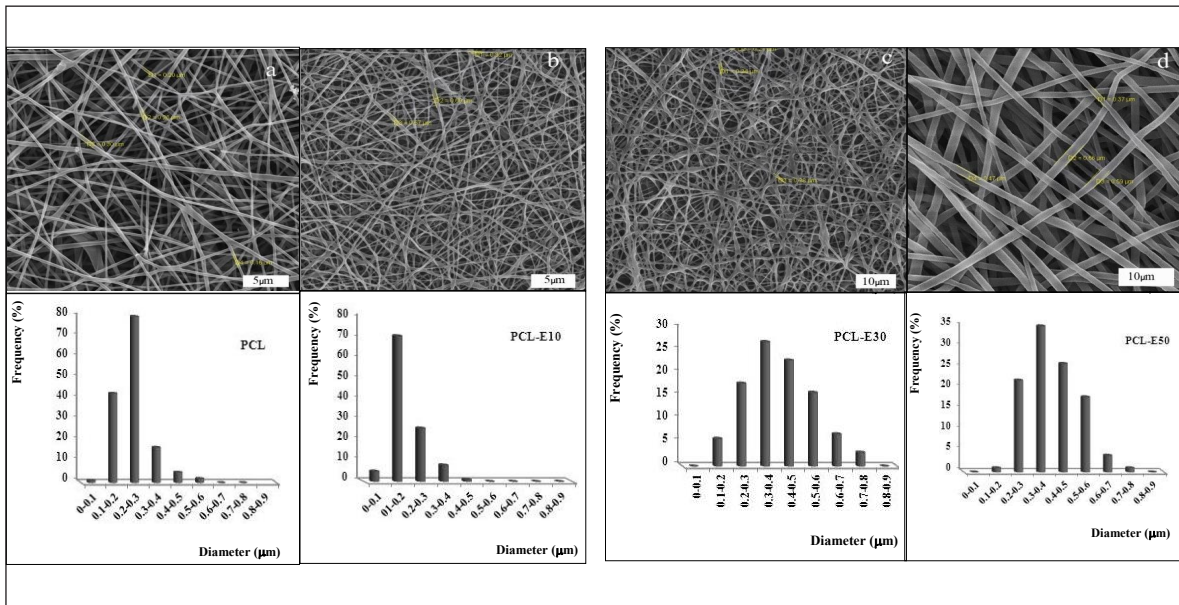
به منظور بررسی میزان آزادسازی عصاره از نمدهای نانولیفی حاوی عصاره در شرایط برون تنی اندازه گیری جذب در طول موج ۵۸۷nm انجام پذیرفت. این طول موج به عنوان طول موج بیشینه جذب هایپرپرسین معرفی شده است. هایپرپرسین مؤثره گیاه علف چای است و بنا به گزارش ها ویژگی ضد میکروبی گیاه به این ماده و همچنین هیپرفورین نسبت داده می شود. از این رو، آزمون رهایش بر اساس آزادسازی مقادیر متفاوت هایپرپرسین و با استفاده از طیف سنج UV-Vis انجام شد. آزمون ها با استفاده از نمونه های مستطیل شکل  $5 \times 5 \text{ cm}^2$  از نمدهای نانولیفی حاوی دارو در ۲۵ml محلول نمکی بافر فسفات بررسی شدند. محلول ها تحت دمای اتاق و با دور ۱۰۰ rpm با یک همزن مغناطیسی هم زده شدند. محیط رهایش (۲ml از محلول) تحت بازه زمانی مشخص، برداشته و جذب تابش در طول موج ۵۸۷ nm با طیف سنجی UV-Vis خوانده و دوباره با محیط کشت تازه پر می شد. جذب عصاره موجود در محلول نمکی بافر فسفات تعیین و از منحنی واسنجی، مقدار عصاره خشک شده محاسبه شد. مقدار تجمعی آزادسازی عصاره به عنوان تابعی از زمان به دست آمد و درصد عصاره آزاد شده

1. Fickian model

## نتیجه‌ها و بحث

### بررسی ریخت و ویژگی‌های نانوالیاف سنتزی

چگونگی توزیع نانوالیاف با توجه به شرایط بهینه برای تولید نانوالیاف در شکل ۱ ارائه شده است. متوسط قطر نانوالیاف در این شرایط برای نانوالیاف PCL برابر  $0.08 \pm 0.01$  با ضریب تغییرات  $245 \pm 0.08$  و برای نانوالیاف PCL-E<sub>10</sub> برابر  $0.14 \pm 0.01$  با ضریب تغییرات  $412 \pm 0.14$  و برای نانوالیاف PCL-E<sub>30</sub> برابر  $0.28 \pm 0.01$  با ضریب تغییرات  $328 \pm 0.28$  و برای نانوالیاف PCL-E<sub>50</sub> برابر  $0.41 \pm 0.01$  با ضریب تغییرات  $401 \pm 0.01$  است.



شکل ۱ تصویر SEM و توزیع قطر نانوالیاف (a) PCL، (b) PCL-E<sub>10</sub>، (c) PCL-E<sub>30</sub>، و (d) PCL-E<sub>50</sub>

با شبهه باشد. لذا تنها در صورتی می‌توان نتیجه‌گیری درست در مورد عامل‌های فرایندی انجام داد که شرایط محیطی ثابت باشد.

### طیف‌سنجی فرورسرخ عصاره گیاهی و نمذ نانولیفی PCL-E<sub>n</sub>

همان‌طور که از مقایسه طیف‌های FT-IR مربوط به الیاف خالص PCL و الیاف PCL همراه با عصاره گیاهی قابل مشاهده است (شکل‌های ۲ و ۳)، الحاق دارو درون نانوالیاف PCL تأیید می‌شود. در این طیف‌ها پیک‌های  $2940$  و  $2863$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات متقارن و نامتقارن گروه C-H است و ارتعاش کربونیل C=O گروه استری در  $1729$   $\text{cm}^{-1}$  رخ می‌دهد. پیک‌های  $960$ ،  $1046$  و  $1102$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات C=O است و ارتعاش خمشی<sup>۱</sup> گهواره‌ای 1. Rocking

افزایش عصاره گیاهی در محلول بسپاری منجر به افزایش رسانایی محلول شده و در نتیجه جریان الکتریکی بزرگ‌تری در طول فرایند الکتروریسی در جت سیال ایجاد می‌شود. بنابراین، انباشتگی بار بر نیروهای چسبندگی غلبه کرده و نیروهای دافعه بارهای انباشته شده میان نانوالیاف، تشدید می‌شود. در نتیجه سرعت فرایند الکتروریسی می‌تواند افزایش یافته و جت سیال زمان کافی برای کشیده شدن مطلوب به وسیله ناپایداری خمشی را ندارد به همین دلیل قطر نانوالیاف می‌تواند با افزایش مقدار عصاره الکلی در محلول به مقدار قابل توجهی افزایش یابد. با توجه به تأثیر عوامل محیطی از جمله رطوبت و دما نتیجه‌گیری در مورد عامل‌های فرایندی می‌تواند یک نتیجه‌گیری ناقص و همراه



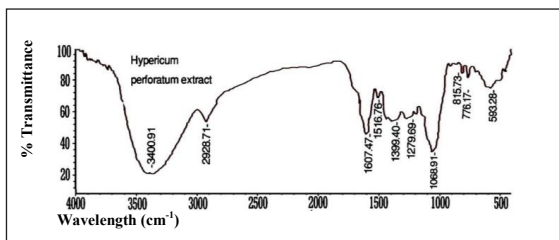
هرچند که به دلیل رطوبت نمد نانولیفی نیز وقوع چنین پیکی امکان پذیر است اما پیک حوالی ۱۵۰۰ تا ۱۶۰۰  $\text{cm}^{-1}$  مربوط به کشش  $\text{C}=\text{C}$  عصاره گیاهی است. پیک ۸۸۰  $\text{cm}^{-1}$  هم در عصاره گیاهی و هم در نمدهای نانولیفی حاوی عصاره به چشم می خورد که دلیل وجود حلقه آروماتیک در عصاره گیاهی است و با توجه به ساختار هر دو بسیار که عاری از حلقه آروماتیک هستند، پیک ۵۹۳  $\text{cm}^{-1}$  عصاره گیاهی که در هر سه طیف نمونه های  $\text{PCL-E}_{10}$ ،  $\text{PCL-E}_{30}$ ،  $\text{PCL-E}_{50}$  نیز مشهود است گواه مهمی بر حضور عصاره در نمد نانولیفی است. سایر پیک های عصاره گیاهی به وسیله ارتعاش های گروه های عاملی  $\text{PCL}$  هم پوشانی داشته و تنها وجود این دو پیک نشان دهنده حضور دارو درون غشاء است.

مطالعات رهائش و سینتیک رهائش هایپریرسین از نمدهای نانولیفی

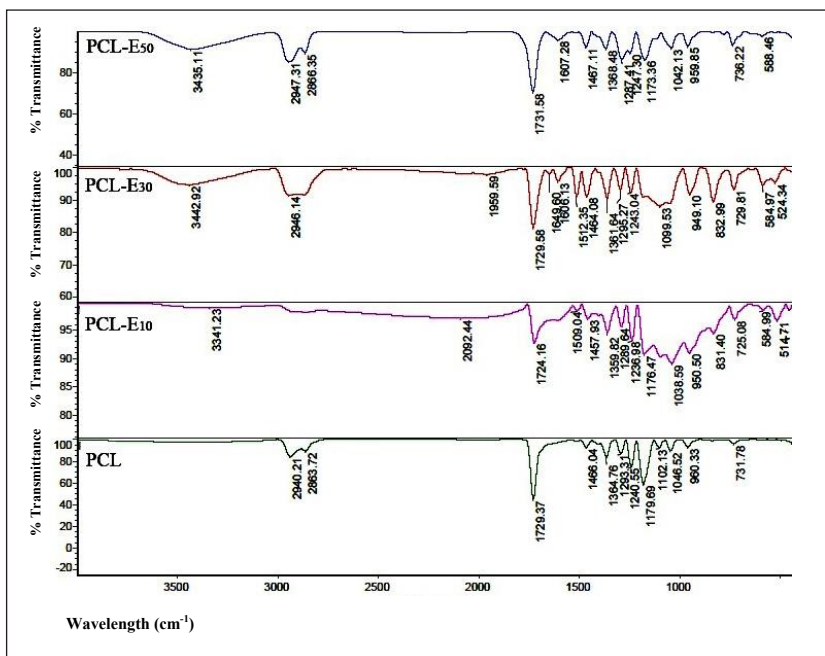
بسیار  $\text{PCL}$  به دلیل ویژگی آب گریزی پایین، ویژگی زیست تخریب پذیری آن بسیار آهسته است. نتایج رهائش عصاره

گروه  $\text{CH}_2$  در  $332\text{cm}^{-1}$  رخ می دهد.

نوار جذبی در  $1294\text{cm}^{-1}$  نشان دهنده ارتعاش های کششی پیوندهای  $\text{C}-\text{O}$  و  $\text{C}-\text{C}$  در پیکره بلور  $\text{PCL}$  است. در شکل ۲ که طیف فرسرخ عصاره گیاهی را نشان می دهد، وجود پیک  $880\text{cm}^{-1}$  مربوط به حلقه های آروماتیک است. ارتعاش کششی  $\text{C}=\text{C}$  در  $1500\text{cm}^{-1}$  و  $1600\text{cm}^{-1}$  و پیک در  $1200\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه های فنلی  $\text{C}-\text{O}$  است و پیک پهن  $3400\text{cm}^{-1}$  به دلیل حضور ارتعاشات کششی گروه های هیدروکسیل است. در همه طیف ها پیک مربوط به گروه هیدروکسیل عصاره الکی در  $3400\text{cm}^{-1}$  وجود دارد که گواهی بر حضور عصاره در بستر است.



شکل ۲ طیف FT-IR عصاره گیاهی خشک شده



شکل ۳ طیف های FT-IR نمونه های  $\text{PCL-E}_{10}$ ،  $\text{PCL-E}_{30}$  و  $\text{PCL-E}_{50}$

بوده سرعت آن نه تنها به وسیله فرسایش بسیار بلکه با نفوذ دارو از طریق ناحیه آمورف بستر بسیاری صورت می پذیرد. تخریب آهسته PCL باعث نفوذ آهسته آب از طریق بسیار می شود که تنها سازوکار ممکن رهایش دارو است. افزون بر این، سرعت تخریب بسیار به دلیل آب گریز بودن و ساختار نیم بلوری آن بسیار آهسته است. بنابراین، نفوذ از طریق بستر بسیاری تنها سازوکار رهایش داروست. ابعاد نانوالیاف نیز برای الگوی رهایش مداوم نمدهای نانولیفی مؤثر است زیرا الیاف باریک تر به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، رهایش بهتری دارند.

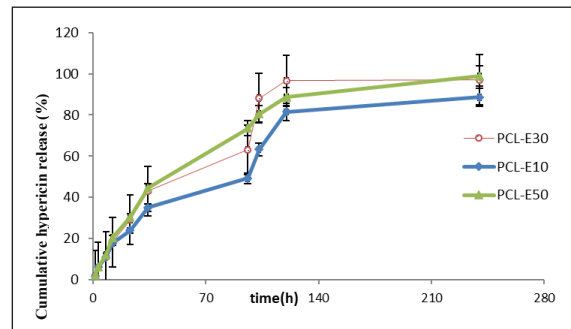
#### بررسی سینتیک رهایش هایپریسین از نمد نانولیفی

تخریب پذیری پلی کاپرولاکتون در قیاس با سایر بسپارها آهسته صورت می گیرد. سطح بالای رهایش اولیه احتمالاً ناشی از انتشار هایپریسین قرار گرفته روی سطح الیاف و بر جذب درون محلول نمکی بافر فسفات بوده که با مدل هیگچی تطبیق زیادی داشته و لذا به دلیل تخریب طولانی مدت بسیار، سازوکار رهایش با مدل هیگسون کروول تطبیق ندارد. افزون بر آن، ضریب همبستگی برای سرعت های متفاوت رهایش دارو از نمدهای متفاوت، انطباق نسبی با مدل صفر را شرح می دهد که این مدل مربوط به رهایش داروهای کم محلول به درون محیط رهایش است. ضرایب همبستگی برای مدل های سینتیک رهایش محاسبه شده در جدول ۱ ارائه شده است.

#### نتیجه گیری

در این پژوهش، برای ساخت پوششی با ویژگی درمان فتودینامیکی ضد میکروبی، از بسپارهای زیست سازگار و زیست تخریب پذیر همچون پلی-ε-کاپرولاکتون (PCL) با موفقیت بهره گرفته شد. شرایط بهینه فرایند الکتروسی (ولتاژ، دبی خوراک، فاصله نازل تا جمع کننده)، برای تهیه نانوالیاف مورد نظر به دست آمد. در مطالعه سینتیک رهایش هایپریسین (HY)، آلکالوئید چندحلقه ای طبیعی استخراج شده از علف چای، رهایش اولیه با مدل هیگچی تطبیق داشت. افزون بر آن، ضریب

گیاهی از نمدهای نانولیفی PCL-E<sub>n</sub> در شکل ۴ نشان داده شده است. مرحله رهایش اولیه بسیار کوتاه و انفجاری دارو می تواند به دلیل داروهای به دام افتاده در نزدیک سطح الیاف باشد.



شکل ۴ منحنی رهایش نمدهای نانولیفی PCL-E<sub>n</sub>

در میان نانوالیاف، نمدهای نانولیفی PCL-E<sub>10</sub> از میانگین قطر  $328 \pm 0.67$  nm از میانگین قطر  $412 \pm 0.14$  nm از میانگین قطر  $401 \pm 0.1$  nm برخوردار بودند که در PCL-E<sub>10</sub> هم به دلیل قطر نانوالیاف و هم بخش آمورف بیشتر بستر بسیاری، رهایش انفجاری و رهایش پیوسته مناسب تری مشاهده شد.

در نمونه نانولیفی به نسبت ۱۰٪ از عصاره، در حدود ۱۷٫۸۳٪ رهایش هایپریسین در ۱۲ ساعت اول نشان داد. این مقدار رهایش در ۹۶ ساعت بعد به ۴۹٫۲۶٪ و در ۲۰۴ ساعت به ۸۸٫۵۶٪ رسید که نشان می دهد نزدیک به نصف دارو در چهار روز اول آزاد شده است. در واقع با گذشت زمان سرعت آزادسازی دارو کاهش می یابد. در مورد نمونه های PCL-E<sub>30</sub> و PCL-E<sub>50</sub> در ۳۴ ساعت نخست حدود نصف دارو رهایش یافت.

تمام منحنی ها دو مرحله را نشان دادند که مرحله رهایش اولیه، به صورت انفجاری و به دنبال آن مرحله آهسته یا ثانویه بود. طبیعت آب گریز PCL باعث تأخیر در نفوذ آب درون بستر می شود [۲۸] و بنابراین نفوذ عصاره از طریق ناحیه آمورف به محیط رهایش، با تأخیر انجام می شود که این خود باعث اثر رهایش انفجاری کوچک تری می شود. در مرحله بعدی رهایش دارو آهسته



داد که میزان جذب آب رابطه مستقیمی با ویژگی آب‌دوستی نمدها دارد. در بررسی سینتیک رهایش نمونه‌ها، حالت انفجاری نمد نانولیفی PCL-E<sub>n</sub> به‌عنوان تابعی از غلظت دارو از معادله سینتیکی هیگوچی، ضریب همبستگی ۰/۹۵۹۱ برای PCL-E<sub>10</sub>، ۰/۹۵۹۳ برای PCL-E<sub>30</sub> و ۰/۹۶۷۰ برای PCL-E<sub>50</sub> به‌دست آمد. در مرحله بعدی رهایش دارو آهسته بوده سرعت آن نه‌تنها با فرسایش بسیار بلکه با نفوذ دارو از طریق ناحیه آمورف بستر بسیاری صورت می‌پذیرد. تخریب آهسته PCL باعث نفوذ آهسته آب از طریق بسیار منافذ می‌شود که سازوکار ممکن رهایش دارو است.

همبستگی برای سرعت‌های متفاوت رهایش دارو از نمدهای متفاوت انطباق نسبی با مدل صفر داشت که این مدل مربوط به رهایش داروهای کم محلول به درون محیط رهایش است. یک روش کنترل عفونت‌های موضعی، درمان فتودینامیکی ضد میکروبی است. اثر اختلاف غلظت عصاره گیاه علف چای بر رهایش دارو از نانوالیاف بررسی شد. تمام منحنی‌ها دو مرحله را نشان دادند که مرحله رهایش اولیه، به‌صورت انفجاری و به دنبال آن مرحله آهسته یا ثانویه بود. رهایش انفجاری مبتنی بر شماری از سازوکارها شامل واجذب سطحی، نفوذ روزنه و یا عدم وجود مانع یا حائل در سر راه نفوذ، است. نتایج نشان

جدول ۱ ضریب همبستگی مدل ریاضی منطبق شده با رهایش هایپرپرسین از نمدهای نانولیفی PCL-E<sub>n</sub>

نمونه	مرتبۀ صفر	مرتبۀ یک	هیگسون-کروول	هیگوچی
PCL-E <sub>10</sub>	۰/۸۶ ± ۰/۰۶	۰/۵۴ ± ۰/۰۳	۰/۶۱ ± ۰/۰۹	۰/۹۵۹۱ ± ۰/۰۸
PCL-E <sub>30</sub>	۰/۸۰ ± ۰/۰۳	۰/۵۲ ± ۰/۰۸	۰/۵۹ ± ۰/۰۷	۰/۹۵۹۳ ± ۰/۰۵
PCL-E <sub>50</sub>	۰/۸۳ ± ۰/۰۲	۰/۵۱ ± ۰/۰۴	۰/۵۸ ± ۰/۰۷	۰/۹۶۷۰ ± ۰/۰۸

## مراجع

- [1] Sharma, M.; Visai, L.; Bragheri, F.; Cristiani, I.; Gupta, P.K.; Speziale, P.; J. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 52(1), 299-305, 2008.
- [2] Kharkwal, G.B.; Sharma, S.K.; Huang, Y.Y.; Dai, T.; Hamblin, M.R.; J. Laser Surg. Med. 43(7), 755-767, 2011.
- [3] de Oliveira, B.P.; Aguiar, C.M.; Câmara, A.C.; European Journal of Dentistry 8(3), 424-430, 2014.
- [4] Wan, M.T.; Lin, J.Y.; J. Clin. Cosmet and Investig Dermatol 7, 145-163, 2014.
- [5] Deyhimi, P.; Khademi, H.; Birang, R.; Akhoondzadeh, M.; J. Dent. 17(1), 43-48, 2016.
- [6] Peplow, P.V.; Chung, T.Y.; Baxter, G.D.; J. Photomed Laser Surg. 30(3), 118-148, 2012.
- [7] Widodo, A.; Spratt, D.; Sousa, V.; Petrie, A.; Donos, N.; J. Clin Oral Implants Res. 27(10), 1227-1232, 2016.
- [8] Nafee, N.; Youssef, A.; El-Gowell, H.; Asem, H.; Kandil, S.; Int. J. Pharm. 454, 249-258, 2013.
- [9] Guo, S.A.; & DiPietro, L.A.; J. Dent. Res. 89(3), 219-229, 2010.
- [10] Hsu, Y.H.; Lin, C.T.; Yu, Y.H.; Chou, Y.C.; Liu, S.J.; Chan, E.C.; Int. J. Nanomed. 11, 3927-3937, 2016.
- [11] Said, S.S.; El-Halfawy, O.M.; El-Gowell, H.M.; Aloufy, A.K.; Boraie, N.A.; El-Khordagui, L.K.; Eur. J. Pharm. Biopharm. 80(1), 85-94, 2012.
- [12] Ramakrishna, S.; Fujihara, K.; Teo, W.;

- Lim, T.; Ma, Z.; "An Introduction to Electro-spinning and Nanofibers", World Scientific, Singapore, 2005.
- [13] Zhong, W.; Xing, M.M.; Maibach, H.I.; J. Cutaneous and Ocular Toxicology 29(3), 143-152, 2010.
- [14] Zahedi, P.; Rezaeian, I.; Ranaei Siadat, S.O.; Jafari, S.H.; Supaphol, P.; J. Polym. Advan. Technol. 21(2), 77-95, 2010.
- [15] Zamani, M.; Morshed, M.; Varshosaz, J.; Janesari, M.; Eur. J. Pharm. Biopharm. 75(2), 179-185, 2010.
- [16] Yang, Y.; Li, X.; Cheng, L.; He, S.; Zou, J.; Chen, F.; Zhang, Z.; J. Acta Biomater. 6, 2533-2543, 2011.
- [17] Wu, X.M.; Branford-White, C.J.; Zhu, L.M.; Chatterton, N.P.; Yu, D.G.; J. Mater. Sci-Mater. M. 21(8), 2403-2411, 2010.
- [18] Chang, W.N. (Editor); "Nanofibers: Fabrication, Performance, and Applications"; Nanotechnology Science and Technology, Nova Science Pub Inc, USA, 2009.
- [19] Chiaviello, A.; Postiglione, I.; Palumbo, G.; J. Cancers 3(1), 1014-1041, 2011.
- [20] Davids, L.M.; Kleemann, B.; J. Cancer Treat. Rev. 37(6), 465-475, 2011.
- [21] Vandenberghe, A.L.; Kamuhabwa, A.; De-laey, E.; Himpens, B.E.; Merlevede, W.J.; de Witte, P.A.; J. Photoch. Photobio. B. 45(2), 87-94, 1998.
- [22] Valarezo Valdez, B.E, Ph.D Thesis, Università degli Studi di Salerno, 2013.
- [23] Kissel T.; Wirkstofffreisetzung Aus. Bio. Abbaubaren Mikropartikeln. Deutsche-Apotheker-Ztg. 133, 29-32, 1993.
- [24] Verreck, G.; Chun, I.; Peeters, J.; Rosenblatt, J.; Brewster, M.E.; J. Pharm. Res. 20(5), 810-817, 2003.
- [25] Peppas, N.; J. Pharmaceutica Acta Helvetiae 60(4), 110-111, 1985.
- [26] Falk, H.; Schmitzberger, W.; J. Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly 123(8-9), 731-739, 1992.

## Investigation of the release kinetics of strong optical photosensor Hypericin from Poly ( $\epsilon$ -caprolacton) nanofibrous mat

Faegheh Pourhojat<sup>1</sup>, Mahmoodreza Sohrabi<sup>2\*</sup>, , Shahab Shariati<sup>3</sup>

1. Ph.D student in applied Chemistry, Department of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Professor of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Associate Professor of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Received: April 2017, Revised: December 2017, Accepted: January 2018

**Abstract:** Transdermal drug delivery systems with controlled release are a useful device for local transfer of pharmaceutical components to the damaged site and healthy layers of the skin. These devices are particularly suitable for wound healing in cases where long-term treatment and frequent wound dressing exchange are needed. In this research, due to the superior feature of nanofibers, high surface to volume ratio, electrospinning technique was used to make dressings, for antimicrobial photodynamic therapy (aPDT), using biocompatible and biodegradable polymers such as poly ( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL). Optimized conditions (voltage, flow rate nozzle to collector distance rotation) for obtaining nanofibers PCL/Extract (10, 30, 50%V/V) are as follows: Voltage of 12kV for nanofibers PCL and PCL-E50, and 20kV for PCL-E10 and PCL-E30, flow rate of 0.1ml/h for PCL and PCL-E50, and 0.5 ml/h for PCL-E10 and PCL-E30, and distance of 100 mm for all the nanofibers.

**Keywords:** Electrospinning, Polymeric Nanofibers, Antibacterial, Release Test, Poly ( $\epsilon$ -caprolacton)