

# سنتز و مشخصه‌یابی نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن اصلاح شده با مخلوط پلیمری نشاسته/کربوکسی متیل سلولز برای بررسی رهاسازی هدفمند داروی ضد ویروس آسیکلوویر

ایوب تعاونی گیلان\*

گروه مهندسی نانومواد دانشگاه رازی

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۶/۰۷/۱۱، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۶/۱۰/۱۴، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۶/۱۱/۱۲

## چکیده

در این تحقیق نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن  $Fe_3O_4$  اصلاح شده با مخلوط پلیمری نشاسته/کربوکسی متیل سلولز به عنوان حامل برای ارسال هدفمند داروی خوراکی ضد ویروس آسیکلوویر (ACV) سنتز گردید. نانوذرات سنتز شده با تغییر نسبت نشاسته/کربوکسی متیل سلولز، درصد بارگذاری دارو و غلظت اتصال دهنده عرضی اصلاح گردیدند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان داد که این نانوذرات دارای شکل تقریباً کروی هستند. طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) و پراش اشعه ایکس (XRD)، علاوه بر نشان دادن پوشیده شدن سطح نانوذرات با مخلوط پلیمری نشاسته/کربوکسی متیل سلولز، عدم وجود هر نوع برهمکنش شیمیایی بین دارو، پلیمر و اتصال دهنده عرضی را نیز نشان دادند. طیف‌سنجی ماوراء بنفش (UV-Vis) نشان داد که بیش از ۹۳/۶۰ درصد داروی آسیکلوویر می‌تواند در نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده محبوس گردد. روند رهاسازی در محل دارو در هر دو محیط اسیدی و بازی به‌طور گسترده بررسی گردید که نتایج بدست آمده وابستگی میزان رهاسازی دارو به افزایش مقادیر اتصال دهنده عرضی و کربوکسی متیل سلولز استفاده شده در سنتز نانوذرات را نشان داد. فرآیند رهاسازی آهسته‌ی دارو حدود ۱۴ ساعت به طول انجامید. نتایج بدست آمده با روند غیر فیکه رهاسازی دارو همخوانی دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که نانوذرات سنتز و بارگذاری شده با داروی آسیکلوویر، برای کاربردهای رهاسازی هدفمند داروهای خوراکی مناسب هستند.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذرات مغناطیسی، کربوکسی متیل سلولز، نشاسته، رهاسازی هدفمند، آسیکلوویر.

## ۱- مقدمه

ویریده (عامل ایجاد تبخال) به کار می‌رود. البته ممکن است در سایر بیماری‌های ویروسی (حتی ایدز) هم مفید باشد. گزارشات علمی متعدد نشان داده که آسیکلوویر نسبت به سایر داروهای ضد ویروس موجود موثرتر بوده و در عین

آسیکلوویر (Acyclovir) یک داروی ضد ویروس مشهور است که برای درمان بیماری‌های ویروسی به خصوص هرپس

\* **عهده‌دار مکاتبات:** ایوب تعاونی گیلان

نشانی: کرمانشاه، خیابان دانشگاه، نانومواد دانشگاه رازی

تلفن: ۰۸۳-۳۴۲۷۴۵۳۰، دورنگار: ۰۸۳-۳۴۲۷۴۵۴۲، پست الکترونیکی: a.taavoni@gmail.com

بافت گیاهی تهیه شده و دارای کاربردهای بسیاری در صنایع خوراکی، دارویی، صنایع شوینده، رنگ و رزین، چسب‌ها، نساجی، کاشی و سرامیک، سفال و چینی، کاغذ، الکتروود جوشکاری، چرم مصنوعی، مواد آرایشی، سموم و آفتکش‌ها و غیره می‌باشد [۶،۸].

نشاسته (Starch) یک پلیمر طبیعی است که از ترکیب دی اکسید کربن و آب در اثر فرآیند فتوسنتز تولید می‌شود و به دلیل تجزیه پذیری زیستی و قیمت پایین می‌تواند گزینه مناسبی برای استفاده از آن به عنوان مواد پایدار کننده باشد [۱۰].

در این کار، ابتدا نانوذرات سوپرمغناطیسی اصلاح شده با مخلوط جدید پلیمری از کربوکسی متیل سلولز و نشاسته سنتز گردید و کاربرد این نانوذرات به عنوان نانوحامل‌ها برای ارسال داروی آسیکلوویر مورد بررسی قرار گرفت. کلرید کلسیم به عنوان اتصال دهنده عرضی پلیمرها استفاده گردید و اثر تغییر غلظت آن بر روی کارایی محبوس نمودن و رهایش دارو بررسی گردید.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

### ۲-۱- مواد

نشاسته، کربوکسی متیل سلولز، کلرید کلسیم ( $\text{CaCl}_2$ )، هیدروکسید سدیم ( $\text{NaOH}$ ) و هیدروکسید آمونیوم ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) از شرکت مرک خریداری شدند. آسیکلوویر، کلرید آهن (II) چهار آب ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )، کلرید آهن (III) ۶ آب ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) از شرکت سیگما آلدریچ خریداری گردیدند.

### ۲-۲- تهیه نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن

برای تهیه نانوذرات اکسید آهن ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) از روش هم‌رسوبی شیمیایی استفاده گردید [۱۱].  $1/6133$  گرم  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  و  $2/6977$  گرم  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}=1:2$ ) را در  $150$  ml آب دو بار تقطیر شده و در محیط نیتروژن حل می‌کنیم.

حال سمیت و اثرهای جانبی کمتری دارد. اما به دلیل پایین بودن نیمه عمر دارو ( $2/5$  ساعت)، باید ۵ بار در روز مصرف شود که این روند برای بیماران نامناسب خواهد بود [۱]. این موضوع لزوم استفاده از سیستم‌های ارسال داروی مطلوبتر مانند قرص‌های ترکیبی، نانوذرات و فیلم‌های پلیمری برای درمان خوراکی این دارو را ضروری می‌سازد. سیستم‌های مذکور رهاسازی دارو را طولانی‌تر نموده و مراحل درمانی را بهبود می‌بخشند [۲،۳]. در میان این سیستم‌ها، مکانیزم دارورسانی مغناطیسی در سال‌های اخیر توجه بیشتری را به خود جلب کرده است که دلیل آن این است که با استفاده از میدان مغناطیسی می‌توان دارو را دقیقاً به سمت هدف بیولوژیکی مد نظر هدایت نمود و مضرات دارو برای بافت‌های طبیعی دیگر بدن را کاهش داد. در این بین، نانوذرات سوپرمغناطیسی اکسید آهن به دلایل سازگاری زیستی، تجزیه پذیری زیستی، پراکندگی مناسب در محیط آبی و خاصیت سوپرمغناطیسی، حامل‌های دارویی مناسبتری نسبت به سایر سیستم‌های اشاره شده خواهند بود [۴،۵].

مواد پوشش دهنده نانوذرات مغناطیسی نقش مهمی را در کاربردهای ارسال دارو ایفا می‌کنند. پوشش‌ها نه تنها پایداری نانوذره را افزایش می‌دهند بلکه فرآیند ارسال و رهایش دارو را نیز بهبود می‌بخشند [۶،۷]. در دهه‌های گذشته به دلیل عملکرد بهتر ترکیبات پلیمری، استفاده از ترکیبات به جای تک پلیمرها ترجیح داده شده است. کربوهیدرات‌ها و پلیمرهای تجزیه پذیر آبدوست به طور گسترده برای بهبود ارسال داروهای با نیمه عمر کوتاه استفاده شده‌اند که دلیل آن برهمکنش این ترکیبات با مخاط معده و باقی ماندن آنها در دستگاه گوارش است که از تجزیه آنزیمی دارو در مرحله رهایش یا جذب آن محافظت می‌کند. سلولز و نشاسته فراوانترین پلی ساکارید موجود در طبیعت هستند [۸،۹].

کربوکسی متیل سلولز (Carboxymethyl cellulose) که از جایگزین شدن گروه‌های کربوکسی متیل ( $\text{CH}_2\text{-COOH}$ ) به جای برخی از گروه‌های هیدروکسیل ( $\text{-OH}$ ) بدست می‌آید، پرکاربردترین ماده از مشتقات سلولزی است که از

نمونه مختلف را با تغییر دادن پارامترهای نسبت CMC/ST، مقدار دانسیته (CaCl<sub>2</sub>/CMC%) و درصد بارگذاری دارو تهیه نمودیم.

## ۲-۴- مشخصه‌یابی

برای اندازه‌گیری میزان محبوس نمودن دارو برای نمونه‌های تهیه شده، نانوذرات بارگذاری شده با دارو را بوسیله دکانتی کردن مغناطیسی جدا می‌کنیم. محلول شناور روی آن را جمع‌آوری کرده و مقدار داروی جذب شده را با دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis (Agilent 8453) در طول موج ۲۶۶ nm و در دمای اتاق اندازه‌گیری می‌گیریم. بازده داروی محبوس شده از رابطه ذیل بدست می‌آید:

$$100 \times \frac{\text{مقدار داروی جذب نشده} - \text{مقدار کل دارو}}{\text{مقدار کل دارو}} = \text{بازده محبوس نمودن دارو}$$

مورفولوژی شکلی و سطحی نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده را با استفاده از TEM (EM 208, Philips) شناسایی می‌کنیم. توزیع اندازه نانوذرات مغناطیسی اصلاح و پراکنده شده در آب مقطر را با آنالیز پراکنده کننده دینامیکی نور DLS (PCS, ZetasizerNano ZS, Malvern Instruments Ltd.) مشخص نمودیم. حضور کربوکسی متیل سلولز، نشاسته و اسیکلوویر در نانوذرات را با استفاده از طیف‌سنج مادون قرمز FTIR (Bruker, ALPHA, Germany) بررسی کردیم. نمونه‌ها با قرص KBr مخلوط شدند و در ناحیه طیفی ۴۰۰۰-۴۰۰ cm<sup>-1</sup> اسکن می‌شوند. ساختار بلوری نمونه‌ها در دمای اتاق را با استفاده از دستگاه آنالیز پراش اشعه ایکس XRD (Philips) با تابش طول موج CuK<sub>α</sub> بررسی نمودیم. برای بررسی چگونگی ره‌ایش دارو از نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده، نمونه‌های حاوی دارو را ابتدا به مدت ۲ ساعت در محلول با pH=۱/۲ و سپس در pH=۷/۴ حل می‌کنیم. محلول را به صورت مداوم بهم می‌زنیم.

در حین آزمایش دما را در ۳۷ °C ثابت نگه می‌داریم. در فاصله زمانی مشخص، ۲ ml از محلول را بر می‌داریم و توسط

سپس ۳۵ ml محلول آمونیا را به کندی به محلول تهیه شده همراه بهم زدن شدید (۱۲۰۰ rpm) اضافه می‌کنیم. گاز نیتروژن از اکسیداسیون جلوگیری می‌کند. رنگ محلول به سرعت از نارنجی تیره به سیاه تغییر پیدا می‌کند. بعد از اینکه محلول حدود یک ساعت با سرعت زیاد بهم زده شد، رسوب سیاه‌رنگ بدست آمده را با کمک یک آهنربای خارجی جداسازی نموده و چندین بار با آب دو بار تقطیر شده شستشو می‌دهیم. سپس در دمای ۵۰ °C به مدت ۲۴ ساعت خشک می‌نماییم.

## ۲-۳- تهیه نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده و بارگذاری دارو روی آن

محلول اولیه نشاسته و کربوکسی متیل سلولز را به ترتیب با حل کردن مقادیر مناسب از هر کدام از آنها در ۵۰ ml آب دو بار تقطیر شده تهیه می‌کنیم. با توجه به نسبت CMC/ST، یک مقدار مشخص از محلول کربوکسی متیل سلولز را به محلول نشاسته که حاوی هسته‌های اکسید آهن (۱۰ w/v) است اضافه می‌کنیم و محلول را به صورت یکنواخت بهم می‌زنیم. مقدار مناسبی از کلرید کلسیم (۱ w/v) را به صورت قطره‌قطره به محلول پلیمری تهیه شده در بالا اضافه می‌کنیم و هم‌زدن را به مدت ۱۲ ساعت دیگر ادامه می‌دهیم تا سوسپانسیونی از نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن اصلاح شده با مخلوط پلیمرهای نشاسته و کربوکسی متیل سلولز تهیه شود. در نهایت نانوذرات اصلاح شده بدست آمده را با آهنربا جداسازی کرده و چندین بار با آب شستشو می‌دهیم و سپس در مرحله آخر آن را دوباره در آب دو بار تقطیر شده پراکنده می‌کنیم.

روش قرار دادن آسلیکوویر روی نانوذرات کامپوزیتی مغناطیسی بدست آمده نیز مانند روش سنتز نانوکامپوزیت می‌باشد با این استثناء که دارو را ابتدا قبل از اضافه کردن محلول کربوکسی متیل سلولز در محلول نشاسته حل می‌کنیم. در پایان مولکول‌های داروی آزاد شده را به صورت مغناطیسی از محلول اصلی جداسازی می‌کنیم. در کل ۱۸

که در آن  $C_1$  و  $C_\infty$  به ترتیب مقدار داروی آزاد شده در زمان  $t$  و زمان بینهایت است.  $K$  ثابت سرعت و  $n$  توان نفوذ می باشد که نشان دهنده مکانیزم رهاسازی دارو است. در این مدل اگر  $n$  برابر  $0/5$  باشد مکانیزم رهایش از قانون فیک یا پدیده دیفوزیون پیروی می کند. اگر مقدار  $n$  بین  $0/5$  و  $1$  باشد مکانیزم دیفوزیون و فرسایش مخلوط پلیمری در رهایش دارو موثر خواهند بود و اگر  $n$  برابر یک باشد، مکانیزم رهایش مستقل از زمان است یا به عبارتی از مدل درجه صفر پیروی می کند. در سایر موارد مکانیزم خاصی را نمی توان برای رهایش دارو بیان نمود. با توجه به مدل های ذکر شده، در این پژوهش مقادیر  $R^2$  و  $n$  (درجه آزادی) را برای هر نمونه محاسبه کرده و مکانیزم ترجیحی برای رهاسازی دارو مربوط به نمونه شناسایی می شود.

### ۳- نتایج و بحث

ترکیب های با نسبت های مختلف کربوکسی متیل سلولز و نشاسته را با نانوذرات مغناطیسی مخلوط کرده و سپس توسط کلرید کلسیم، اتصال ذرات به هم را محکم کرده و در نهایت نانوذرات مغناطیسی پوشش داده شده با پلیمر تهیه می شود که ساختار سه بعدی دارد و می تواند به راحتی دارو را گیر بیندازد و برای کاربردهای رهاسازی هدفمند داروهای خوراکی مورد استفاده قرار گیرد. زنجیره های کربوکسی متیل سلولز بوسیله یون های  $Ca^{2+}$  اتصال عرضی داده شده و یک ساختار شبکه ای تشکیل می دهد و نشاسته به صورت زنجیره ای درون این ساختار شبکه ای قرار می گیرند.

#### ۳-۱- اثر غلظت کلی پلیمر

به منظور افزایش و بهبود بازده محبوس نمودن دارو، غلظت کلی پلیمر را افزایش می دهیم. جدول ۱ اثر افزایش غلظت کلی پلیمر بر روی بازده محبوس نمودن دارو را نشان می دهد. به طور کلی بازده محبوس نمودن با افزایش غلظت کلی پلیمر از  $0/1$  به  $1 \text{ mg/ml}$  افزایش پیدا می کند. بنابراین غلظت کلی پلیمر را در  $(1 \text{ w/w})$  ثابت نگه می داریم. نانوذرات

$2 \text{ ml}$  دیگر جایگزین می کنیم تا حجم محلول ثابت بماند. نمونه بیرون آورده شده را صاف کرده و مقدار دارو را با استفاده از طیف سنجی UV-Vis در طول موج  $266 \text{ nm}$  اندازه گیری کرده و درصد تجمعی داروی آزاد شده را محاسبه می کنیم. مکانیزم رهاسازی دارو از نانوذرات را با استفاده از فیت کردن داده های رهاسازی دارو با مدل های مختلف مثل درجه صفر، درجه اول، هیگوچی (Higuchi) و کورزمایر-پیپاس (Korsmeyer-Peppas) بدست می آوریم [۳، ۱۲]. در مدل درجه صفر، مقدار داروی حل شده به مقدار داروی اولیه وابسته نیست:

$$Q_t = k_0 \cdot t \quad (1)$$

در این رابطه  $Q_t$  معادل داروی حل شده تا زمان  $t$  و  $k_0$  ثابت سرعت درجه صفر است. در مدل درجه یک تغییرات مقدار ماده حل نشده نسبت به زمان با توان اول مقدار داروی حل نشده نسبت مستقیم دارد:

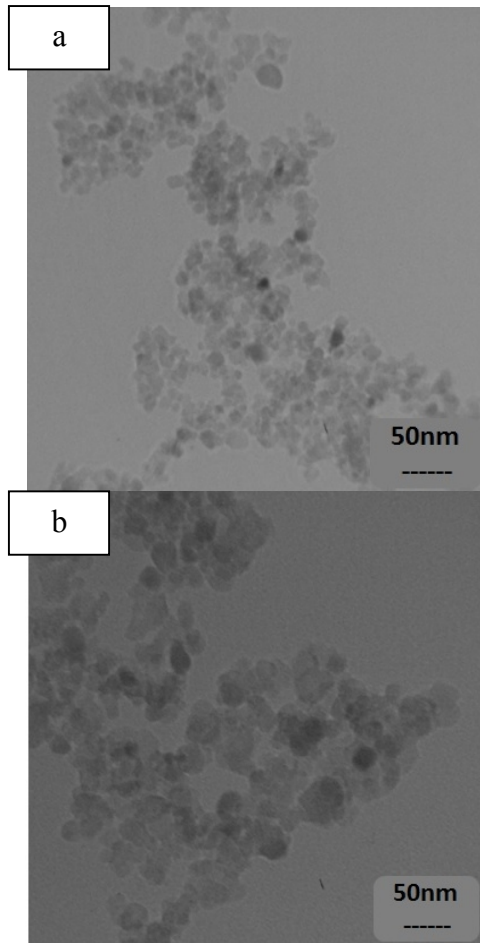
$$LnM = LnM_0 - k_1 t \quad (2)$$

در این رابطه  $M$  مقدار داروی حل نشده در زمان  $t$ ،  $M_0$  مقدار کلی داروی مورد مطالعه و  $k_1$  ثابت سرعت درجه یک است. مدل هیگوچی برای بیان رهایش دارو در مخلوط های همگن بکار می رود. در این مدل رهایش دارو بوسیله نفوذ مواد محلول در مخلوط همگن کنترل و محدود می شود و مکانیزم رهایش از قانون فیک یا همان دیفوزیون پیروی می کند. در این مدل مقدار داروی حل شده با ریشه دوم زمان ارتباط دارد:

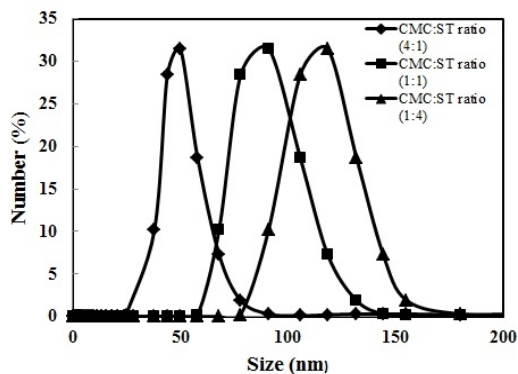
$$Q_t = kt^{1/2} \quad (3)$$

در مدل کورزمایر-پیپاس نسبت داروی رها شده به کل دارو با توان  $n$  زمان ارتباط دارد:

$$C_t/C_\infty = kt^n \quad (4)$$



شکل ۱: تصاویر TEM، (a) نانوذرات بدون پوشش و (b) نانوذرات اصلاح شده با مخلوط پلیمری با نسبت CMC/ST برابر ۱، CaCl<sub>2</sub>/CMC برابر ۱ w/w و ۵۰٪ بارگذاری داروی آسیکلوویر.



شکل ۲: منحنی‌های توزیع اندازه نانوذرات اصلاح شده با نسبت‌های مختلف CMC/ST، نسبت CaCl<sub>2</sub>/CMC برابر ۱ w/w و ۵۰ درصد بارگذاری داروی آسیکلوویر.

مغناطیسی بوسیله سه نسبت مختلف از CMC/ST، Calcium Chloride/CMC % و درصد بارگذاری دارو تهیه شدند (جدول ۲).

جدول ۱: اثر غلظت کلی پلیمر بر روی بازده محبوس نمودن دارو در نسبت ACV: CMC/ST برابر ۱:۲ و حجم کلی محلول ۲۰ ml.

Total polymer concentration (mg/ml)	Encapsulation efficiency (%)
۰/۱	۱۵/۵
۰/۲	۲۱/۳
۰/۳	۲۹/۶
۰/۴	۳۴/۲
۰/۵	۳۹/۴
۰/۶	۴۵/۱
۰/۷	۵۳/۸
۰/۸	۶۴/۵
۰/۹	۷۲/۱
۱/۰	۸۲/۶

### ۲-۳- بررسی مورفولوژی

تصاویر TEM نانوذرات بدون پوشش و اصلاح شده در شکل ۱ نشان داده شده است. نانوذرات مغناطیسی با (منحنی b) و بدون بارگذاری دارو (منحنی a) دارای شکل تقریباً کروی هستند. توزیع اندازه ذرات با و بدون پوشش به ترتیب بین ۳۰-۵۰ nm و ۱۰-۳۰ nm بود که نشان دهنده این موضوع است که توزیع اندازه ذرات با اعمال پوشش پلیمری بزرگتر شده است اما مورفولوژی سطحی و شکلی ثابت مانده و تغییری نکرده است.

### ۳-۳- آنالیز اندازه ذره

توزیع اندازه ذرات برای نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده با نسبت‌های مختلف پلیمری نشاسته/کربوکسی متیل سلولوز و پراکنده شده در آب مقطر در شکل ۲ آورده شده است.

جدول ۲: مشخصات نمونه‌های مختلف نانوذرات سنتز شده.

Formulation code	CMC: Starch	CMC (%w/w)	Starch (%w/w)	ACV (%w/w)	CaCl <sub>2</sub> :CMC (%)	Encapsulation efficiency (%)
F1	۱:۴	۲۰	۸۰	۲۵	۰/۲	۲۵/۲
F2	۱:۴	۲۰	۸۰	۲۵	۰/۵	۲۸/۵
F3	۱:۴	۲۰	۸۰	۲۵	۱	۳۳/۲
F4	۱:۴	۲۰	۸۰	۵۰	۰/۲	۳۲/۳
F5	۱:۴	۲۰	۸۰	۵۰	۰/۵	۳۵/۷
F6	۱:۴	۲۰	۸۰	۵۰	۱	۴۱/۵
F7	۱:۱	۵۰	۵۰	۲۵	۰/۲	۵۲/۵
F8	۱:۱	۵۰	۵۰	۲۵	۰/۵	۵۷/۸
F9	۱:۱	۵۰	۵۰	۲۵	۱	۶۱/۴
F10	۱:۱	۵۰	۵۰	۵۰	۰/۲	۶۳/۵
F11	۱:۱	۵۰	۵۰	۵۰	۰/۵	۶۸/۵
F12	۱:۱	۵۰	۵۰	۵۰	۱	۷۴/۲
F13	۴:۱	۸۰	۲۰	۲۵	۰/۲	۷۵/۶
F14	۴:۱	۸۰	۲۰	۲۵	۰/۵	۷۸/۹
F15	۴:۱	۸۰	۲۰	۲۵	۱	۸۳/۶
F16	۴:۱	۸۰	۲۰	۵۰	۰/۲	۸۶/۵
F17	۴:۱	۸۰	۲۰	۵۰	۰/۵	۸۹/۵
F18	۴:۱	۸۰	۲۰	۵۰	۱	۹۳/۶

در طیف کربوکسی متیل سلولز (منحنی a)، پیک په‌ن مشاهده شده در  $3419 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به نوسان کششی O-H گروه OH و پیک واقع شده در  $2920 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به نوسان کششی C-H گروه‌های  $\text{CH}_2$  و  $\text{CH}_3$  می‌باشد. پیک‌های واقع در طول موج‌های  $1616$  و  $1423 \text{ cm}^{-1}$  به نوسان کششی و متقارن گروه‌های COO مربوط است [۱۳]. باندهایی که در طول موج‌های  $1060$  و  $1130 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر می‌شوند به ترتیب مشخص کننده نوسان کششی متقارن گروه‌های ات‌ری کربوکسی متیل  $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$  و C-O-C هستند [۱۴].

طیف نشاسته (منحنی b)، نوسان‌های کششی C-C را در طول موج‌های  $709$  و  $816 \text{ cm}^{-1}$ ، نوسان مد اسکلتی پیوند

نتایج نشان می‌دهد که بین توزیع اندازه ذرات با تغییر نسبت مخلوط پلیمری رابطه عکس وجود دارد. هر چه درصد کربوکسی متیل سلولز افزایش یابد میانگین اندازه نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده کاهش می‌یابد. علت این موضوع این است که با افزایش درصد کربوکسی متیل سلولز، مقدار سایت‌های در دسترس برای اتصال عرضی افزایش پیدا می‌کند و در نتیجه اندازه نانوذرات کاهش پیدا می‌کند [۸].

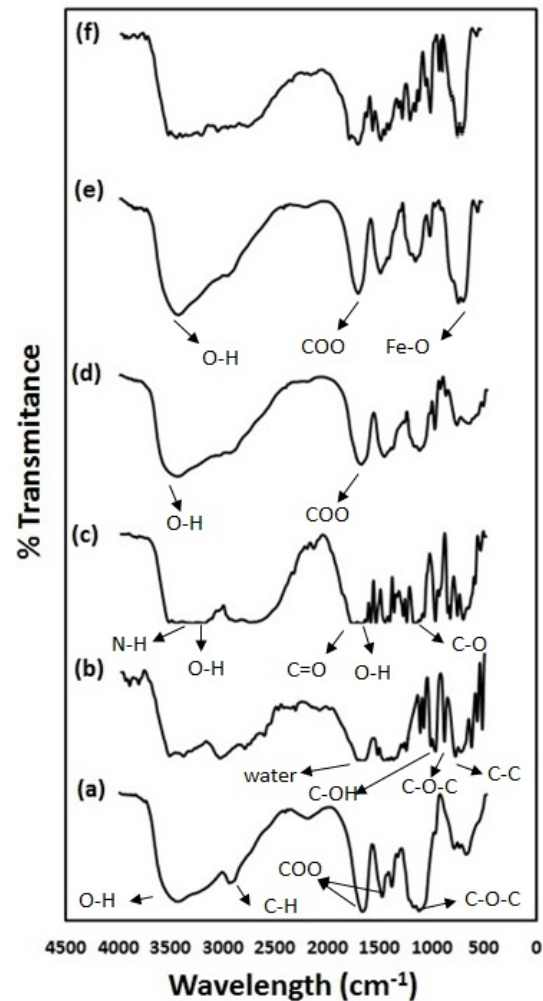
### ۳-۴- آنالیز FTIR

طیف FTIR کربوکسی متیل سلولز، نشاسته، آسیکلوویر، مخلوط پلیمری CMC/ST و نانوذرات با و بدون بارگذاری دارو در شکل ۳ (a تا f) نشان داده شده است.

کشسانی نامتقارن آلیفاتیک C-H را در  $2927 \text{ cm}^{-1}$ ، مد کشسانی متقارن آلیفاتیک C-H را در  $2873 \text{ cm}^{-1}$ ، مد تغییر شکل آلیفاتیک C-H را در  $1485 \text{ cm}^{-1}$ ، مد کششی C=O را در  $1712 \text{ cm}^{-1}$  و مد کششی را در طول موج  $1112 \text{ cm}^{-1}$  نشان می‌دهد. در طیف مخلوط پلیمری CMC/ST (منحنی d)، باند الکی اولیه نشاسته در  $1065 \text{ cm}^{-1}$  حذف گردیده که نشان می‌دهد این سایت فعال بوده و واکنش بین مولکول نشاسته و مولکول کربوکسی متیل سلولز در این سایت اتفاق می‌افتد [۱۳]. باند خمشی C-OH که در نشاسته در طول موج  $1315 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده بود با افزودن کربوکسی متیل سلولز به طول موج  $1312 \text{ cm}^{-1}$  منتقل می‌شود [۱۶]. Xu و همکارانش نشان دادند که باندهای استر اکثراً در بین گروه‌های هیدروکسیل شاخه‌های آمیلوپکتین پلیمر نشاسته و گروه‌های اسید کربوکسیلیک پلیمر کربوکسی متیل سلولز ایجاد می‌شوند که نشان دهنده تشکیل ساختار عرضی پایدار بین این دو پلیمر است [۱۷]. همچنین ظهور پیوند COO در محدود طول موج  $1615 \text{ cm}^{-1}$  با یک شیفت مینیمم نشان دهنده بازده مخلوط شدن دو پلیمر نشاسته و کربوکسی متیل سلولز می‌باشد. این موضوع نشان می‌دهد که نوسان متقارن پیوندهای C=O و C-O افزایش پیدا می‌کند که احتمالاً به دلیل شکستن پیوند هیدروژنی بین مولکولی گروه‌های هیدروکسیل با اضافه کردن نشاسته است [۱۶، ۱۸]. باند جذبی آب در پلیمر نشاسته (واقع در طول موج  $1648 \text{ cm}^{-1}$ ) با افزودن کربوکسی متیل سلولز حذف می‌شود. باند پهن ظاهر شد در محدوده طول موجی  $3000-3600 \text{ cm}^{-1}$  در مخلوط پلیمری CMC/ST به دلیل مد کششی O-H و ایجاد پیوند هیدروژنی داخل مولکولی/بین مولکولی می‌باشد [۱۶، ۱۹].

در مقایسه با طیف IR مخلوط پلیمری CMC/ST، طیف نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن اصلاح شده با مخلوط پلیمری CMC/ST (منحنی e)، یک پیک قوی را در  $593 \text{ cm}^{-1}$  نشان می‌دهد که می‌تواند به نوسان باند Fe-O کمپلکس CMC/ST-Fe نسبت داده شود. مقایسه باندهای جذبی اکسید آهن در حالت بالک ( $375$  و  $570 \text{ cm}^{-1}$ ) با طول

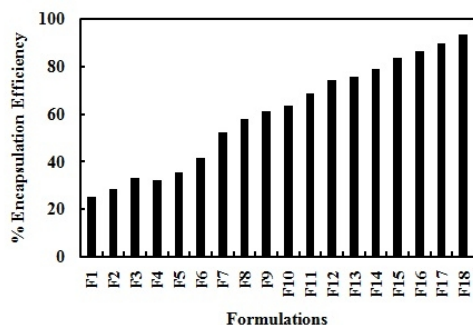
کشی الکی  $\alpha$ -1,4, glycosidic (C-O-C) را در طول موج  $952 \text{ cm}^{-1}$ ، مد کششی الکی  $\text{CH}_2\text{OH}$  را در طول موج  $1065 \text{ cm}^{-1}$ ، نوسان خمشی C-O-H را در طول موج  $1315 \text{ cm}^{-1}$ ، نوسان کششی C-H را در طول موج  $2929 \text{ cm}^{-1}$ ، حضور آب در نواحی آمورف نشاسته را در طول موج  $1619 \text{ cm}^{-1}$  و نوسان کشسانی O-H را در طول موج  $3385 \text{ cm}^{-1}$  نشان می‌دهد [۱۳، ۱۵].



شکل ۳: طیف FTIR (a) کربوکسی متیل سلولز، (b) نشاسته، (c) آسکلوویر خالص، (d) نانوذرات اصلاح شده با مخلوط پلیمری CMC/ST، (e) نانوذرات اصلاح شده با مخلوط پلیمری CMC/ST و (f) بارگذاری شده با داروی آسکلوویر.

آسکلوویر خالص (منحنی c)، پیک نوسان کششی O-H را در  $3523 \text{ cm}^{-1}$ ، تغییر شکل O-H را در  $1612 \text{ cm}^{-1}$ ، مد کششی نوسان N-H را در طول موج  $3445 \text{ cm}^{-1}$ ، مد

به این دلیل باشد که در غلظت‌های بالاتر کربوکسی متیل سلولز، ویسکوزیته بالای کربوکسی متیل سلولز باعث بوجود آمدن ساختار شبکه‌ای با نفوذپذیری کمتری می‌شود که منجر به جلوگیری از فرار دارو از نانوذرات می‌شود.



شکل ۴: مقایسه بازده محبوس نمودن داروی آسیکلوویر برای نمونه‌های نانوذرات اصلاح شده با مخلوط پلیمری CMC/ST.

### ۳-۵-۳- اثر مقدار داروی بارگذاری شده

مطابق نتایج بدست آمده در جدول ۲، با کاهش در مقدار بارگذاری دارو، کارایی محبوس نمودن دارو روند کاهشی دارد که به دلیل به تله افتادن مقادیر کمتر دارو در ساختار پلیمری است. این امر می‌تواند به این دلیل باشد که حلالیت دارو در آب کم است که منجر به جلوگیری از به تله افتادن مقادیر بیشتری دارو در حین تشکیل نانوذره می‌شود. برای بررسی‌های بیشتر، در ادامه نمونه‌های F7 تا F18 را بخاطر بالا بودن مقدار کارایی محبوس نمودن دارو انتخاب می‌کنیم.

### ۳-۶- آنالیز XRD

شکل ۵ الگوی پراش اشعه ایکس کربوکسی متیل سلولز، نشاسته، نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده با CMC/ST و نانوذرات با و بدون بارگذاری دارو را نشان می‌دهد. هر سه ماده دارای درجه بلوری متفاوتی هستند. کربوکسی متیل سلولز یک پلیمر آمورف است و یک پیک پراش پهن در محدوده ۲θ بین ۲۰-۲۵ درجه [۲۱] را نشان می‌دهد که نشان دهنده ماهیت آمورف این ترکیب است (منحنی a). نشاسته دارای پیک‌هایی در ۲θ برابر ۱۴، ۱۷، ۲۲ و ۲۴ درجه است (منحنی b). این الگو

موج همین باندها در نانوذرات اصلاح شده نشان می‌دهد که شیفت کوچکی به طول موج‌های بالاتر ایجاد شده است [۲۰]. پیک‌های مشخصه آسیکلوویر، نشاسته، کربوکسی متیل سلولز و اکسید آهن در طیف نانوذرات اصلاح و بارگذاری شده با دارو (منحنی f) مشاهده گردیدند که بیان کننده پوشیده شدن نانوذرات اکسید آهن در حین وارد کردن دارو در مخلوط پلیمری خواهد بود.

### ۳-۵- تعیین درصد محبوس نمودن دارو

کارایی محبوس نمودن دارو به صورت مقدار داروی قرار داده شده در نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده با مخلوط پلیمری نشاسته و کربوکسی متیل سلولز (CMC/ST) نسبت به مقدار کل داروی اولیه اضافه شده تعریف می‌شود. کارایی محبوس نمودن دارو در این نانوذرات در محدوده ۹۳/۶-۲۵/۲٪ است (جدول ۱).

نمایش گرافیکی کارایی محبوس نمودن دارو برای نمونه‌های بدست آمده در شکل ۴ نمایش داده شده است. این کارایی به غلظت اتصال کننده عرضی، مقدار داروی بارگذاری شده و ساختار پلیمر وابسته است.

### ۳-۵-۱- تعیین درصد محبوس نمودن دارو

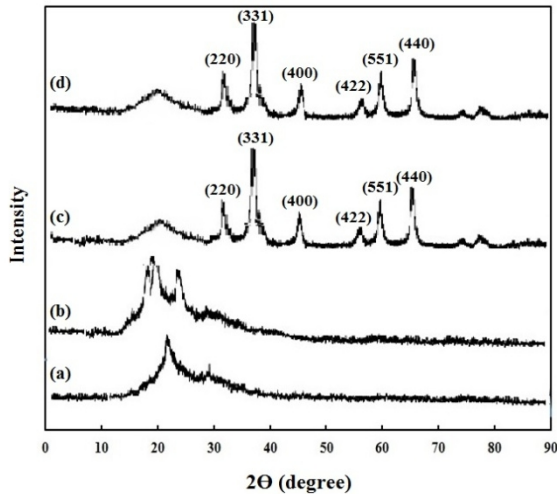
اتصال دهنده عرضی روی کارایی محبوس نمودن دارو اثر مهمی دارد. مطابق جدول ۲، هر چه غلظت اتصال دهنده افزایش پیدا کند کارایی محبوس نمودن دارو افزایش می‌یابد که این امر باعث کاهش میزان رهائش دارو خواهد شد. همچنین شبکه پلیمری دچار یک انقباض سریع می‌شود و در نتیجه یک ساختار محکمتر و کوچکتری را بوجود می‌آورد که همین امر احتمال نشت دارو به بیرون از شبکه را کم می‌کند.

### ۳-۵-۲- اثر ساختار پلیمر

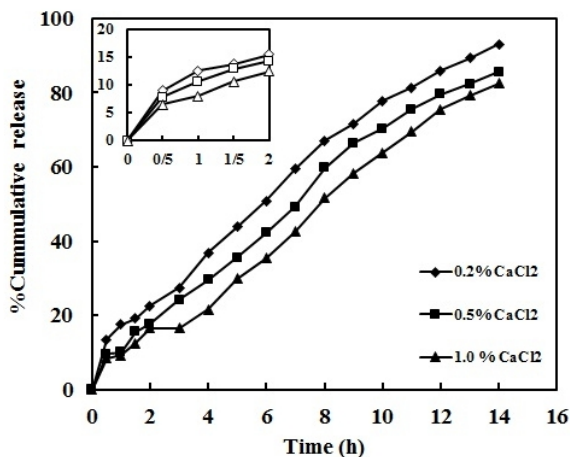
در نمونه‌های تهیه شده با مقدار کربوکسی متیل سلولز بالاتر، کارایی محبوس نمودن دارو نیز بیشتر است. این امر می‌تواند



داده‌های رهاسازی دارو را نشان می‌دهد که بیانگر این است که نمونه با مقدار داروی بالاتر (F16)، سرعت رهاسازی بالاتری نسبت به نمونه‌های با مقادیر کمتر آسیکلوویر (F13) دارد.



شکل ۵: طیف XRD (a) کربوکسی متیل سلولوز، (b) نشاسته، (c) نانوذرات اصلاح شده با مخلوط پلیمری CMC/ST، (d) آسیکلوویر خالص و (e) نانوذرات اصلاح شده با مخلوط پلیمری CMC/ST و بارگذاری شده با داروی آسیکلوویر.



شکل ۶: روند رهاسازی دارو در محلول اسیدی (علائم توخالی) و محلول بافر فسفاتی (علائم توپر) نانوذرات بارگذاری شده با داروی آسیکلوویر در نسبت‌های مختلف  $\text{CaCl}_2/\text{CMC}$  برابر  $1-0.2$ ، نسبت  $\text{CMC}:\text{ST}$  ثابت برابر ۱ و ۲۵ درصد بارگذاری دارو.

شکل ۸ مقدار تجمعی رهاسازی دارو بر حسب زمان را برای نانوذرات تهیه شده با نسبت‌های مختلف (CMC/ST)، مقدار بارگذاری ثابت دارو برابر ۵۰ درصد و نسبت  $\text{CaCl}_2/\text{CMC}$

نشان دهنده ساختار نیمه بلوری نشاسته است [۲۲]. شش پیک مربوط به صفحات (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۴۲۲)، (۵۱۱) و (۴۴۰) برای  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  اصلاح شده با CMC/ST، مشابه پیک‌های مربوط به  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  خالص با ساختار مکعبی مرکز وجوه پر (FCC) می‌باشد [۲۳، ۲۰]. همچنین یک پیک پهن در محدوده  $2\theta$  بین ۲۵-۱۰ درجه قابل مشاهده است که حضور پلیمرها را نشان می‌دهد [۶].

شدت پیک‌های پراش در نانوذرات اصلاح شده در مقایسه با نانوذرات بدون پوشش بخاطر ورود کربوکسی متیل سلولوز و نشاسته ضعیف‌تر می‌شود اما موقعیت پیک‌ها بدون تغییر باقی می‌ماند. الگوی پراش اشعه ایکس نشان می‌دهد که موقعیت و شدت پیک‌های پراش مربوط به نانوذرات اصلاح شده با مخلوط پلیمری CMC/ST (منحنی c) و نانوذرات اصلاح شده و بارگذاری شده با دارو (منحنی d) مشابه یکدیگرند که نشان می‌دهد که حضور دارو تغییری در الگوی XRD ایجاد نمی‌کند.

### ۳-۲- بررسی رهایش دارو

رهاسازی در محل دارو را در دو pH مربوط به معده (۱/۲) و pH مربوط به روده (۷/۴) انجام دادیم. سرعت رهاسازی دارو به میزان نفوذ آب به درون نانوذرات مغناطیسی با اتصال عرضی بستگی دارد. فاکتور اصلی در رهاسازی دارو، ماهیت ورم کردگی پلیمرها و حلالیت دارو در محیط است. در pH‌های قلیایی ورم کردن نانوذرات مطلوب است. نمودار درصد تجمعی رهاسازی (شکل ۶) نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اتصال دهنده عرضی میزان رهایش دارو کاهش می‌یابد.

نمونه‌های با مقادیر کمتر اتصال دهنده عرضی (F7) سرعت رهاسازی بالاتری نسبت به نمونه‌های با مقادیر بالاتر اتصال دهنده عرضی (F8 و F9) دارند. این موضوع تایید کننده تشکیل ساختار شبکه‌ای محکمتر است که سرعت ورم کنندگی پلیمرها و در نتیجه سرعت رهایش دارو را کاهش می‌دهد. دو غلظت مختلف از آسیکلوویر (۲۵ و ۵۰ wt.%) را در حین فرآیند اتصال عرضی دادن، به نانوذرات اضافه می‌کنیم. شکل ۷

در نتیجه سرعت ورم کردگی تقریباً کم است. وقتی pH به ۷/۴ تغییر می‌کند، گروه‌های کربوکسیل یونیزه می‌شوند و دافعه الکتروستاتیکی بین زنجیره‌های مولکولی ایجاد می‌شود. این دافعه باعث نفوذ سریع‌تر آب به داخل شبکه و در نتیجه افزایش سرعت ورم کردگی می‌شود [۲۴].

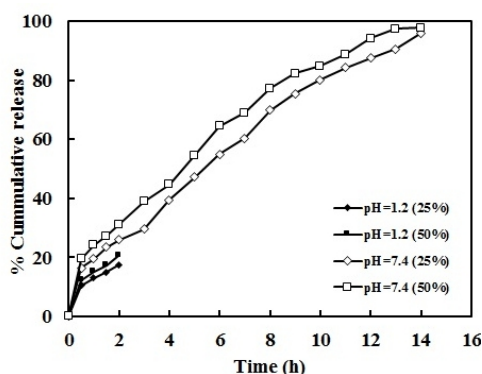
جمع‌بندی نتایج نشان می‌دهد که فرمولاسیون F9 مناسب‌تر از سایر نمونه‌ها بوده و در نتیجه تقریباً ۸۰٪ دارو می‌تواند در مدت زمان ۱۴ ساعت ره‌ایش یابد که در مقایسه با کارهای قبلی گزارش شده در مورد ره‌ایش هدفمند این دارو، هم مدت زمان ره‌ایش و همچنین درصد محبوس شدن دارو در این نانوذرات تا حد قابل توجهی افزایش یافته است.

### ۳-۸- سینتیک ره‌ایش دارو

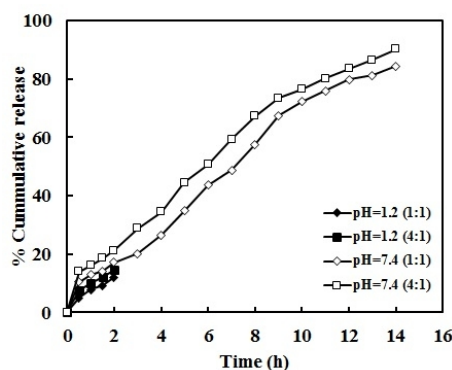
داده‌های مربوط به ره‌اسازی داروی آسیکلوویر از نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده را با استفاده از مدل‌های ریاضی مختلف مثل درجه صفر، درجه یک، هیگچی و کورزمایر-پیپاس به صورت سینتیکی بررسی کردیم. مقادیر  $R^2$ ، صحت نتایج را نشان می‌دهد. نتایج مربوط به فیت کردن داده‌ها با مدل‌های مختلف ریاضی در جدول ۳ نشان داده شده است.

سینتیک ره‌اسازی دارو بیشترین تطابق را با مدل کورزمایر-پیپاس با  $R^2 > 0.99$  دارد. با رسم مقادیر لگاریتم  $C_t/C_\infty$  نسبت به زمان، مقادیر  $n$  برای داده‌های مربوط به ره‌اسازی دارو از نانوذرات محاسبه می‌شود که نشان دهنده مکانیزم نفوذ آنومولوس (Anomalous) غیر فیکتی است. مکانیزم ره‌اسازی آنومولوس بیانگر نفوذ کنترل شده و ره‌اسازی هدفمند است. در این کار مقادیر  $n$  با مقدار اتصال دهنده عرضی و درصد بارگذاری دارو نسبت مستقیم و با مقدار کربوکسی متیل سلولز در نانوذرات نسبت عکس دارد. هر چقدر مقادیر  $n$  کمتر باشد، شبکه پلیمری با اتصال عرضی کمتری ایجاد می‌شود که باعث افزایش ورم کردگی می‌شود. مقادیر  $n$  برای نانوذرات اتصال عرضی داده شده با نسبت ثابت  $CaCl_2/CMC$  برابر ۰/۲ w/w که کوچکتر از زمانی است که نسبت  $CaCl_2/CMC$  برابر ۱/۰ w/w است [۲۵، ۲۶].

ثابت برابر ۱ w/w نشان می‌دهد (نمونه‌های F12 و F18). این شکل نشان می‌دهد که با افزایش مقدار کربوکسی متیل سلولز، مقدار ورم کردگی در بافر با pH=۷/۴ افزایش و در بافر با pH=۱/۲ کاهش می‌یابد که این موضوع به دلیل ماهیت آبدوستی کربوکسی متیل سلولز است که باعث افزایش سرعت ره‌اسازی دارو از ترکیب در pH=۷/۴ می‌شود.



شکل ۷: روند ره‌اسازی دارو در محلول اسیدی (علائم توخالی) و محلول بافر فسفاتی (علائم توپر) نانوذرات بارگذاری شده با درصدهای مختلف بارگذاری داروی آسیکلوویر، نسبت  $CaCl_2/CMC$  برابر ۰/۲ w/w و نسبت  $CMC:ST$  ثابت برابر ۴:۱.



شکل ۸: روند ره‌اسازی دارو در محلول اسیدی (علائم توخالی) و محلول بافر فسفاتی (علائم توپر) نانوذرات بارگذاری شده با داروی آسیکلوویر در نسبت‌های مختلف  $CMC:ST$ ، نسبت  $CaCl_2/CMC$  برابر ۱ w/w و درصد بارگذاری داروی ثابت ۵۰٪.

در pH=۱/۲، پیوند هیدروژنی بین گروه‌های هیدروکسیل کربوکسی متیل سلولز و نشاسته باعث برهمکنش دو پلیمر با هم می‌شود که نسبت به برهمکنش پلیمر با آب قوی‌تر است.

- [7] C. Saikia, A. Hussain, A. Ramteke, H.K. Sharma, T.K. Maji, *Journal of Microencapsulation*, **32**, 2015, 29.
- [8] S. Banerjee, L. Siddiqui, S.S. Bhattacharya, S. Kaity, A. Ghosh, P. Chattopadhyay, A. Pandey, L. Singh, *International Journal of Biological Macromolecules*, **50**, 2012, 198.
- [9] P.G.d.C. Marcos R. Mauricio, Shirani K. Haraguchi, Marcos R. Guilherme, A.F.R. Edvani C. Muniz, *Carbohydrate Polymers*, **115**, 2015, 715.
- [10] Y. Hong, G. Liu, Z. Gu, *Drug delivery*, **23**, 2016, 12.
- [11] R. Khodadust, G. Unsoy, S. Yalcin, G. Gunduz, U. Gunduz, *Journal of Nanoparticle Research*, **15**, 2013, 1.
- [12] V. Harish, *World Journal of Pharmaceutical Research*, 2017, 1150.
- [13] A.J. Braihi, *International Journal of Materials Science and Applications*, **3**, 2014, 363.
- [14] K. Madhusudana Rao, B. Mallikarjuna, K.S.V. Krishna Rao, M.N. Prabhakar, K. Chowdoji Rao, M.C.S. Subha, *Polymer Bulletin*, **68**, 2011, 1905.
- [15] N. Ochoa, M. Bello, J. Sancristobal, V. Balsamo, A. Albormoz, J.L. Brito, *Materials Research*, **16**, 2013, 1209.
- [16] W. Tongdeesontorn, L.J. Mauer, S. Wongruong, P. Sriburi, P. Rachtanapun, *Chemistry Central journal*, **5**, 2011, 6.
- [17] Y.X. Xu, K.M. Kim, M.A. Hanna, D. Nag, *Industrial Crops and Products*, **21**, 2005, 185.
- [18] Q. Tong, Q. Xiao, L.T. Lim, *Food Research International*, **41**, 2008, 1007.
- [19] L. Jiang, Y. Li, X. Wang, L. Zhang, J. Wen, M. Gong, *Carbohydrate Polymers*, **74**, 2008, 680.
- [20] R. Xing, X. Wang, C. Zhang, J. Wang, Y. Zhang, Y. Song, Z. Guo, *Journal of Materials Chemistry*, **21**, 2011, 11142.
- [21] L. Upadhyaya, J. Singh, V. Agarwal, A.C. Pandey, S.P. Verma, P. Das, *Journal of Polymer Research*, **21**, 2014.
- [22] K. Chauhan, V. Priya, P. Singh, G. S. Chauhan, S. Kumarib, R.K. Singhal, *RSC Advances*, **5**, 2015, 1762.
- [23] L.X. Xuejie-Guo, W. Lv, Q. Liu, R. Li, Z. Li, J. Wang, *New Journal of Chemistry*, **39**, 2015, 7340.
- [24] S. Wang, Q. Zhang, B. Tan, L. Liu, L. Shi, *Journal of Macromolecular Science, Part B*, **50**, 2011, 2307.
- [25] G. Singhvi, M. Singh, *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research*, **2**, 2011, 77.
- [26] S.A.P. Ajit, P. Rokhade, T.M. Aminabhavi, *Carbohydrate Polymers*, **67**, 2007, 605.

#### ۴- نتیجه‌گیری

دو پلیمر آبدوست کربوکسی متیل سلولز و نشاسته را به عنوان پوشش روی نانوذرات مغناطیسی قرار دادیم تا رهایش هدفمند دارو را بررسی کنیم. کارآیی محبوس نمودن دارو توسط نانوذرات پوشش داده شده با مخلوط پلیمرها، به ماهیت ترکیب بستگی داشته و در محدوده ۹۳/۶-۲۵/۲ درصد است. آنالیز FTIR و XRD برای تایید تشکیل نانوذرات اصلاح شده با این پلیمرها انجام گردید. مقدار دانسیته اتصال دهنده عرضی، درصد بارگذاری دارو و میزان کربوکسی متیل سلولز، رهاسازی دارو را تحت تاثیر قرار می‌دهند. مکانیزم آزاد شدن دارو به صورت غیر فیکلی است. در کل نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات مغناطیسی اصلاح شده با مخلوط پلیمری CMC/ST می‌تواند برای رهاسازی هدفمند دارو طی مدت زمان طولانی تری استفاده شود.

#### مراجع

- [1] N. Malik, M. Ahmad, M. Minhas, *PloS one*, **12**, 2017, 127.
- [2] D. Ramyadevi, K. Rajan, *RSC Advances*, **5**, 2015, 12956.
- [3] A. Gandhi, S. Jana, K.K. Sen, *International Journal of Biological Macromolecules*, **67**, 2014, 478.
- [4] A. Sangtani, O.K. Nag, L.D. Field, J.C. Breger, J.B. Delehanty, "Nanomedicine and nanobiotechnology", Wiley interdisciplinary reviews, 2017.
- [5] Z. Shakoory, H. Ghanbari, Y. Omid, M. Pashaiasl, A. Akbarzadeh, Z. Jomeh-Farsangi, S.M. Rezayat, S. Davaran, *Drug development and industrial pharmacy*, **43**, 2017, 1283.
- [6] A.M. Grumezescu, E. Andronesu, A. Ficiu, C. Bleotu, D.E. Mihaiescu, M.C. Chifiriuc, *International Journal of Pharmaceutics*, **436**, 2012, 771.