



ساخت و ارزیابی نانوذرات زئولیت ZSM-5 اصلاح شده با بتاسیکلودکستریلین به عنوان حامل برای کورکومین

نیلوفر رحمانی | امیر باقری گرمارودی* | محمدرضا خانمحمدی خرمی

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

چکیده: در این پژوهش، نانو زئولیت ZSM-5 بدون قالب به روش هیدروترمال سنتز و با بتاسیکلودکستریلین اصلاح شد. در مرحله بعد برای بارگذاری کورکومین در نانو حامل از روش رفلاکس متانول استفاده شد تا پایداری بیشتری برای حمل دارو داشته باشد. تعیین خصوصیات نانوذرات تهیه شده توسط پراش پرتو X، میکروسکوپ الکترونی روبشی، طیف سنج زیر قرمز تبدیل فوریه، طیف بینی پراکنش انرژی پرتو ایکس و آنالیز وزن سنجی حرارتی انجام شد. بازده بارگذاری و رهايش دارو با استفاده از روش اسپکتروفتومتری UV-Vis بررسی شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که اندازه ذرات زئولیت ZSM-5 حدود ۴۴ نانومتر است و طیف سنج زیر قرمز تبدیل فوریه، طیف بینی پراکنش انرژی پرتو ایکس و نیز آنالیز وزن سنجی حرارتی، سنتز و عامل دارشدن نانو ذرات زئولیت با سیکلودکستریلین و همچنین تشکیل کمپلکس نانوزئولیت اصلاح شده و کورکومین را تایید کرد. بازده بارگذاری دارو بر سطح نانوذرات در شرایط بهینه ۹۵٪ بود و بازده رهايش دارو در $\text{pH} = 7/4$ حدود ۴۳ درصد و در $\text{pH} = 5/5$ حدود ۶۱ درصد ارزیابی شد که بیانگر کارایی بالای سیستم حامل دارو در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های سالم است. بنابراین نانو حامل سنتز شده رویکرد بسیار مناسبی برای تحویل داروهای آب‌گریز مانند کورکومین به بافت هدف است که کاربردشان در درمان به دلیل فعالیت دارویی نامطلوب و فراهمی‌یستی پایین محدود شده است.

واژگان کلیدی: زئولیت، سیکلودکستریلین، داروسازی، کورکومین.

bagheri@sci.ikiu.ac.ir

۱- مقدمه

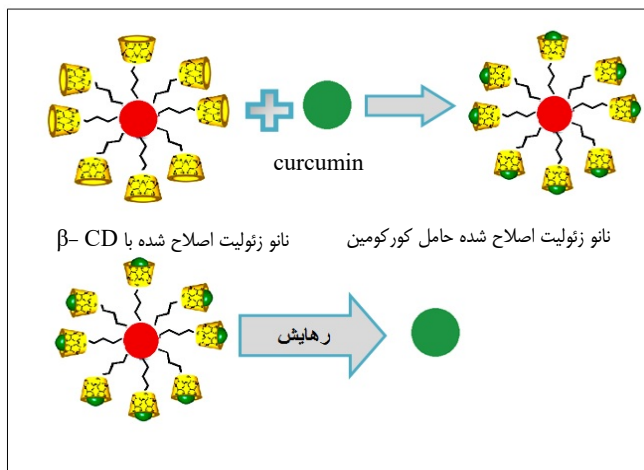
خلل و فرج‌های ریز هستند که حاوی کاتیون‌های قابل تبدلی از گروه فلزات قلیایی و قلیایی خاکی یعنی Na^+ ، K^+ ، Mg^{2+} و Ca^{2+} بوده و به‌طور برگشت پذیر آب را جذب و آزاد می‌کنند. یکی از ویژگی‌های آن‌ها این است که قادرند بدون تغییر عمده در ساختارشان به‌طور برگشت پذیر آب را به خود جذب و مجدداً آزاد کرده و بعضی از کاتیون‌های ساختمانی خودشان را مبادله کنند. ساختار زئولیت‌ها از شبکه‌های متصل به هم تشکیل شده است به گونه‌ای که در شبکه چهار وجهی، اتم‌های سیلیسیم یا آلومینوم در مرکز و اتم‌های اکسیژن در گوشه‌ها قرار دارند و دارای شبکه‌های

در سال‌های اخیر، توجه فراوانی به تهیه نانوذرات به عنوان حامل‌هایی برای داروسازی شده است. حامل‌های نانویی با تغییر فعالیت دارو باعث بهبود عملکرد دارو و کاهش عوارض جانبی آن می‌شوند. این نانو حامل‌ها، دارو را به مقدار معین و در محل خاص آزاد نموده و در نتیجه بر فعالیت و توزیع دارو در بدن موثر هستند. مواد معدنی متخلخل مانند آلومینوسیلیکات‌ها با توجه به ظرفیت بالای بارگذاری دارو و با توجه به خواص بیولوژیکی و پایداری در محیط‌های بیولوژیکی دارای پتانسیل بالایی برای کاربردهای پزشکی هستند. زئولیت‌ها گروهی از آلومینوسیلیکات‌های هیدراته متبلور با

مولکول‌های سیکلودکسترین حاوی مولکول‌های آب میهمان درون حفره‌هایشان هستند که مولکول دارو می‌تواند جایگزین این مولکول‌های آب شود. سیکلودکسترین نقش میهمان برای زئولیت و نقش میزبان برای مولکول دارو بازی می‌کند. هدف از این کار ره‌ایش آهسته مولکول دارو و در نتیجه طولانی شدن عمر مولکول دارو است. یکی از مهمترین ویژگی سیکلودکسترین‌ها توانایی تشکیل کمپلکس درهم‌جای با مولکول‌های میهمان آب‌گریز (دارو) در نانوحفره‌های آن است. سیکلودکسترین دارای حفره آبدوست در بخش خارجی و حفره آب‌گریز در بخش داخلی است. این خواص برای حلالیت در آب و توانایی کپسول دار کردن قسمت‌های آب‌گریز درون حفره‌های آن‌ها مسئول هستند و اتصال مولکول‌های میهمان در کمپلکس‌های در هم جای سیکلودکسترین در محیط آبی، پایه‌ای برای کاربردهای دارویی شده است [۸]. تاکنون پیشرفت زیادی در درمان بیماری‌ها صورت گرفته اما برخی از این درمان‌ها اثرات نامطلوب در بیماران تحت درمان به همراه دارند. از این رو تلاش می‌شود تا از گیاهان در کنار سایر درمان‌ها استفاده شود. در این پژوهش از کورکومین به عنوان داروی مدل استفاده شد. کورکومین، یک ترکیب پلی فنل آب‌گریز مشتق شده از ریشه گیاه زرد چوبه است، که دارای کاربردهای گسترده دارویی مانند ضد التهاب، ضد ویروس نقص ایمنی انسانی، ضد میکروبی، ضد اکسایش، ضد انگلی، ضد جهش زا و ضد سرطان است [۹]. با وجود همه این خواص ضد سرطانی فوق العاده، کورکومین دارای حلالیت پایین در محلول‌های آبی است و متحمل تخریب سریع در pH فیزیولوژیکی می‌شود که منجر به فراهمی زیستی پایین و خواص دارویی نامطلوب می‌شود و تا حد زیادی مانع اثربخشی داخل بدن می‌شود [۱۰]. به منظور بهبود خواص آب‌گریزی و دارورسانی کورکومین، فرمولاسیون‌های متعددی برای کپسول-دار کردن در نانو ذرات ایجاد شده است که این سیستم‌ها حلالیت و پایداری دارو را بهبود می‌بخشند [۱۱]. در این پژوهش، بتاسیکلودکسترین به دلیل اینکه یک محصول نیمه طبیعی با سمیت بسیار کم است و دارورسانی را از طریق غشاهای بیولوژیکی افزایش می‌دهد، برای بهبود فعالیت دارویی کورکومین انتخاب شد [۱۲]. هدف از کار حاضر ایجاد یک نانوحامل دارویی جدید است که مزایای نانوذرات زئولیت ZSM-5 و بتاسیکلودکسترین را در خصوص توانایی آن‌ها برای بالا بردن فراهمی زیستی داروها ترکیب می‌کند. اساس طراحی این نانو سیستم جدید، به کار بردن توان تشکیل کمپلکس دارویی بتاسیکلودکسترین و خواص ذاتی

سه بعدی متشکل از چهار وجهی‌های $[\text{SiO}_4]^{4-}$ و $[\text{AlO}_4]^{4-}$ هستند [۱]. زئولیت‌ها موادی غیر سمی و زیست سازگار هستند که دارای خواص ویژه‌ای همچون تبادل یون، جذب و خاصیت کاتالیتی هستند که تقریباً تمام فرآیندهای شیمیایی و حیاتی از یکی از این سه مسیر صورت می‌گیرد. از لحاظ شیمیایی زئولیت‌ها با نسبت Si/Al موجود در چارچوب یونی آنها از یکدیگر متمایز می‌شوند [۲]. ساختارهایی که تاکنون مورد توجه پژوهشگران در زمینه پزشکی قرار گرفته است عبارتند از: MOR, LTA FAU, BEA, MFI خواص زئولیت‌ها برای تحویل مولکول‌های دارویی کوچک عبارت است از: زیست سازگاری، سمیت پایین زئولیت‌ها، اندازه منفذ کوچک، قابلیت تنظیم کردن خواص زئولیت‌ها از طریق تغییر دادن نسبت Si/Al ، تبادل کاتیون و یا گروه‌های عاملی سطحی. مثال‌های متعددی از کاربردهای دارویی زئولیت‌ها گزارش شده است. از جمله این کاربردها می‌توان به تثبیت آنزیم‌ها برای سنجش زیستی [۳]، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی [۴]، درمان زخم و به عنوان سامانه ره‌ایش دارو اشاره کرد. استفاده از زئولیت در سامانه‌های دارورسانی از بزرگترین و جدیدترین کاربردها در زمینه پزشکی این ماده است. از جمله کاربردهای زئولیت‌ها به عنوان سیستم ره‌ایش دارو: ره‌ایش دوکسوروبیسین از نانو هیبرید زئولیت-مگنتیت [۵]، ره‌ایش پاراکوات (یکی از معمول ترین علف-کش‌هایی که در کشاورزی استفاده می‌شود) از زئولیت Y و همچنین بارگذاری و ره‌ایش داروی آسپرین از زئولیت HY نیز گزارش شده است [۶ و ۷]. یکی از انواع زئولیت‌های MFI، زئولیت ZSM-5 می‌باشد که به عنوان کاتالیست کاربرد وسیعی در فرآیندهای شیمیایی و پتروشیمی دارد [۲]. از آنجایی که زئولیت‌ها متشکل از واحد های SiO_4 و AlO_4 هستند، حضور آلومینیوم در چارچوب زئولیت منجر به یک چارچوب باردار می‌شود که دارای قابلیت تبادل کاتیون است و این قابلیت می‌تواند برای بارگذاری و ره‌ایش نیز استفاده شود. اصلاح زئولیت‌ها برای سازگاری آن‌ها به عنوان حامل داروی بالقوه باعث بهبود کارایی آن‌ها می‌گردد. زئولیت اصلاح شده با سیکلودکسترین می‌تواند نقش مهم دو میزبانی برای مولکول‌های دارو بازی کند. زئولیت شامل یک گروهی از ترکیبات درهم جای است که توسط یک شبکه آلومینوسیلیکات تشکیل شده-اند و آن‌ها مولکول‌های آب را به عنوان مولکول میهمان در خود محصور می‌کنند. مولکول‌های آب می‌توانند حذف شوند و یک سری از مولکول‌های آلی یا معدنی مختلف در حفره‌های زئولیت جذب شوند که سیکلودکسترین‌ها می‌توانند جذب زئولیت میزبان شوند.

می‌شود. برای این کار ۰/۱ گرم نانوزئولیت ZSM-5 در ۱۰ میلی لیتر تولوئن و ۱۰۰ میکرولیتر آمینوپروپیل تری متوکسی سیلان توسط حمام فراصوت به مدت ۲ ساعت به طور یکنواخت پراکنده شد. سپس نمونه ۲ بار با تولوئن و ۳ بار با اتانول سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد ۰/۰۷ میلی لیتر تولوئن دی ایزوسیانات را با اتانول در بالن ۱۰ میلی لیتری به حجم رسانده و بلورهای زئولیت ZSM-5 عامل‌دار شده با گروه‌های آمین در محلول ۰/۰۵ مولار تولوئن دی ایزوسیانات در اتانول به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد توسط حمام فراصوت به طور یکنواخت پراکنده شد و ۳ بار با اتانول سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد، بلورهای زئولیت ZSM-5 عامل‌دار شده با ایزوسیانات در محلول آبی بتا سیکلودکسترین ۵/۴ مولار به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد توسط حمام فراصوت پراکنده شد. در نهایت، بلورهای زئولیت ZSM-5 اصلاح شده با بتا سیکلودکسترین به طور کامل با آب شسته و سپس خشک شد [۱۴]. در مرحله بعد، مقدار ۰/۰۰۵ گرم از کورکومین و ۰/۰۲۵ گرم از حامل به ترتیب در متانول و آب حل شدند. محلول کورکومین قطره قطره به محلول آبی حامل تحت شرایط همزدن با سرعت بالا اضافه شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد با تکان دادن شدید رفلکس شد و با همزدن مخلوط به مدت یک ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد بدون رفلکس و به دنبال آن با تبخیر چرخشی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، متانول از مخلوط حذف شد. مخلوط آبی حاصل تا دمای اتاق سرد شد و سانتریفیوژ شد و محلول زیرین برای تولید پودراز کمپلکس ایجاد شده به مدت ۲ روز درون دستگاه خشک‌کن سرمایشی قرار داده شد [۱۵].



شکل ۱: طرح شماتیک مکانیسم جذب و واجذب دارو

نانوذرات زئولیت ZSM-5 به طور همزمان در یک سیستم دارورسانی است.

۲- بخش تجربی

مواد و تجهیزات

سدیم هیدروکسید ۹۹٪ و متانول ۹۹/۹٪ از شرکت مرک آلمان، سدیم آلومینات (۵۶-۵۰٪) و تترااتیل ارتو سیلیکات (۹۹٪)، آمینوپروپیل تری متوکسی سیلان ۹۷٪ و بتا سیکلودکسترین ۹۷٪ و تولوئن دی ایزو سیانات ۹۰٪ و کورکومین ۸۰٪ از شرکت سیگما و اتانول از شرکت بیدستان خریداری شدند.

طیف سنج تبدیل فوریه زیر قرمز مدل Tensor 27 شرکت Bruker ساخت کشور آلمان، پراش‌سنج پرتو X مدل wp1800 ساخت شرکت philips میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل EM-3200 شرکت KYKY ساخت کشور چین، طیف سنج پراکنش انرژی پرتو ایکس (EDX) توسط دستگاه FESEM مدل MIRA III ساخت جمهوری چک، دستگاه آنالیز گرما وزن سنجی مدل Pyris Diamond شرکت perkinelmer ساخت کشور ژاپن و دستگاه اسپکتروفتومتری UV-Vis (Double Beam) مدل M350 ساخت شرکت camspec بود.

روش آزمایش

ساخت نانو ذرات حاوی دارو:

۰/۹۶ گرم سدیم هیدروکسید و ۰/۱۶ گرم سدیم آلومینات در ۵۷/۲۴ میلی لیتر آب دوبار تقطیر برای تشکیل یک محلول شفاف حل شدند. سپس ۱۳/۴ میلی لیتر از تترااتیل ارتو سیلیکات به طور آهسته تحت شرایط همزدن با سرعت بالا به آن اضافه شد. این محلول سنتزی به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق همزده شد و سپس به اتوکلاو منتقل شد و در آن در دمای ۱۸۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. سپس پودر سفید رنگ فیلتر شد و به طور کامل با آب مقطر شستشو داده شد و در دمای اتاق خشک شد [۱۳]. به منظور تثبیت بتا سیکلودکسترین بر سطح نانوذرات زئولیت ابتدا لازم است سطح این ذرات با آمینو پروپیل تری متوکسی سیلان عامل‌دار گردد. عامل آلکوکسی سیلان جهت اضافه کردن اتصالات و گروه‌های عاملی جدید روی سطح زئولیت استفاده

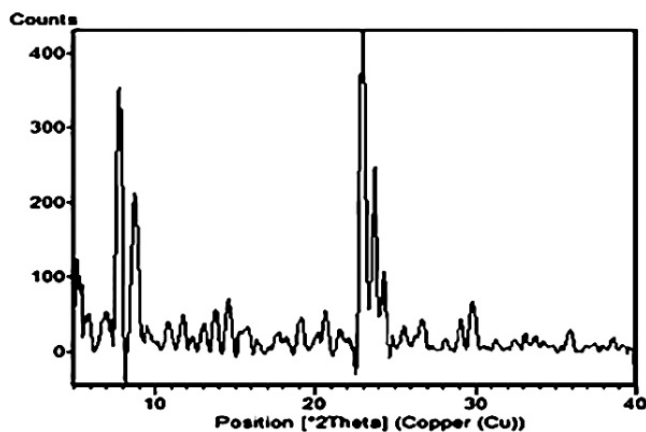
تعیین بازده بارگذاری دارو در نانو ذرات:

می‌یابد. برای اندازه‌گیری غلظت دارو در بافر فسفات در هنگام رهایش، در فواصل زمانی معین هر بار ۳ میلی لیتر از محیط بافر نمونه‌گیری کرده و جذب آن توسط دستگاه فرابنفش - مرئی در طول موج ۴۲۷ nm خوانده شد. بعد از هر بار نمونه‌گیری ۳ میلی لیتر از بافر تازه به محیط اضافه شده تا شرایط نمونه‌گیری در تمام مراحل یکسان باشد. همین روش جهت رهایش دارو در pH = ۵/۵ انجام شد. لازم به ذکر است که pH بافت‌های سرطانی اسیدی بوده و جهت بررسی‌کارایی سیستم حامل دارو در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت-های سالم این pH انتخاب شده است.

۳ - نتایج و بحث

آنالیز XRD

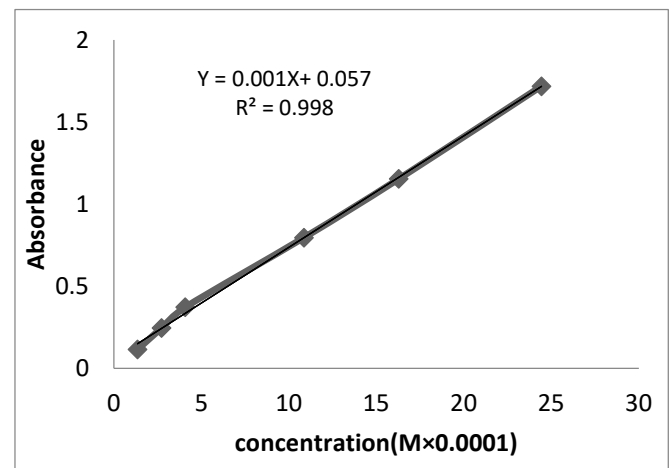
شکل ۳ نشان‌دهنده طیف XRD مربوط به نانوذولیت ZSM-5 است. همان‌طور که مشخص است طیف دارای پیک‌های مشخص مربوط به زئولیت ZSM-5 است و در موقعیت ۲θ در محدوده‌های ۹-۷° و ۲۵-۲۳° پیک‌های شاخصی را نشان می‌دهد [۱۳].



شکل ۳: الگوی پراش پرتو X نانوذولیت ZSM-5

الگوی پراش پرتو ایکس محصول بدست آمده در شکل ۴ نشان داده شده است. این الگو دارای پیک‌هایی در موقعیت ۲θ بین ۹-۷، ۱۰/۸، ۱۲/۶، ۱۴/۷، ۱۷/۳، ۱۸، ۱۹/۱، ۱۹/۷، ۲۱، ۲۳/۱، ۲۴/۵، ۲۵/۴، ۲۶، ۲۷/۴ است. این الگو پیک‌های مربوط به زئولیت ZSM-5 و کورکومین را نشان می‌دهد [۱۳ و ۱۶]. سیکلودکسترین به دلیل اینکه آمورف است حاوی هیچ گونه پیک‌های کریستالی نیست. علاوه بر این پیک‌های جدید مشاهده می‌شوند که شامل

بازده بارگذاری دارو با استفاده از یک دستگاه طیف سنجی UV-Vis مدل M350 ساخت شرکت camspec بدست آمد. برای این کار ابتدا غلظت‌های استاندارد مختلف در محدوده $10^{-4} M$ تا $1/35 \times 10^{-4} M$ از دارو تهیه شد و میزان جذب در طول موج ۴۲۷ nm تعیین و نمودار استاندارد رسم شد (شکل ۲). برای تعیین میزان داروی بارگذاری شده، کورکومین و نانوذرات زئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترین در نسبت‌های ۱:۵، ۱:۳، ۱:۱، ۱:۰/۵، ۱ و ۱:۰/۵، ۱:۱ (w/w) به ترتیب در متانول و آب پراکنده شدند و سایر مراحل طبق روش مذکور برای بارگذاری دارو انجام شد و میزان جذب محلول‌های رویی که حاوی داروی آزاد است، برای محاسبه بازده بارگذاری دارو اندازه‌گیری شد.



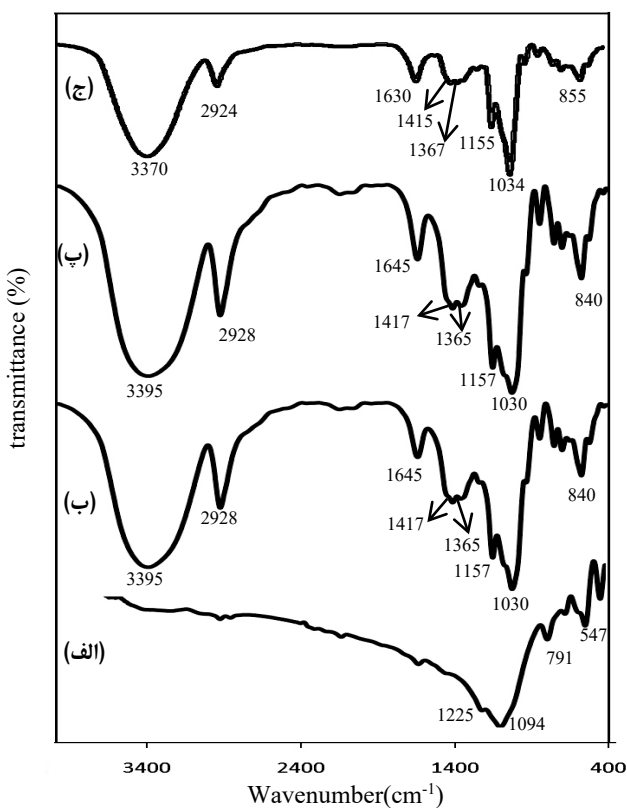
شکل ۲: منحنی استاندارد دارو

بررسی رهایش داروی بارگذاری شده روی نانو ذرات زئولیت اصلاح شده در محیط برون تنی:

جهت بررسی رهایش دارو، نانوذراتی که بیشترین میزان داروی بارگذاری شده بر سطحشان داشتند برای بررسی روند رهایش در ۵ میلی لیتر بافر فسفات با pH = ۷/۴ که مربوط به pH فیزیولوژیکی بدن است در فالكون در بسته توسط حمام فراصوت به مدت ۳ دقیقه پراکنده شد. فالكون در دستگاه لرزاننده کنترل دمایی (انکوباتور) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا شرایط محلول مشابه شرایط بدن شود. به تدریج داروی بارگذاری شده از نانوحامل زئولیت آزاد می‌شود و با گذشت زمان غلظت دارو در بافر فسفات افزایش

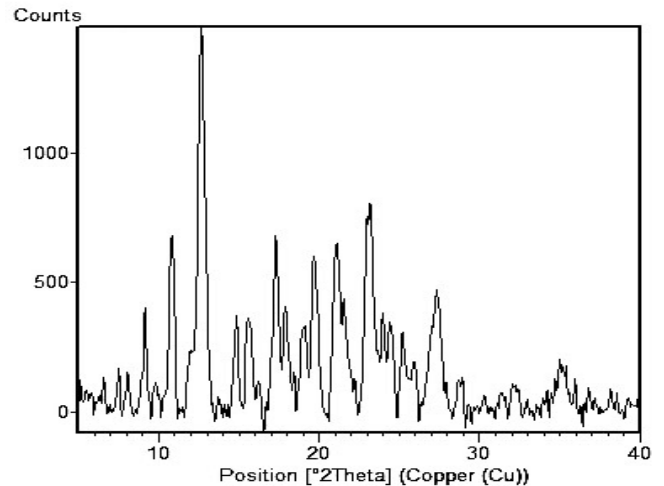
حفظ می‌کند و هیچ یک از نوارهای جذبی ژئولیت ZSM-5 را نشان نمی‌دهد [۱۷].

همچنین به منظور بررسی تشکیل کمپلکس در هم جای کورکومین و ژئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین، طیف FT-IR آن‌ها تهیه شد. شکل ۵ (ج) طیف FT-IR نانوحامل کورکومین را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود طیف FT-IR، تشکیل کمپلکس در هم جای کورکومین و ژئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین را تایید می‌کند. همه پیک‌های متعلق به ژئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین در طیف FT-IR نانو حامل کورکومین ظاهر شده‌اند و تعدادی از پیک‌های مربوط به کورکومین نیز قابل مشاهده هستند. به دلیل تشکیل کمپلکس کورکومین با ژئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین همه پیک‌های مربوط به ژئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین به اعداد موجی بالاتر یا پایین‌تر منتقل شدند. یعنی $3395-3370\text{ cm}^{-1}$ ، $1645-1630\text{ cm}^{-1}$ ، $1417-1415\text{ cm}^{-1}$ این داده‌ها حضور کورکومین در کمپلکس کورکومین با ژئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین را تایید کرد [۱۸].



شکل ۵: طیف FT-IR، (الف) نانوزئولیت ZSM-5، (ب) بتا سیکلودکسترتین، (پ) نانوزئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین، (ج) نانو ژئولیت اصلاح شده حامل دارو

خطوط ضعیفی در $5/8$ ، $6/5$ و همچنین پیک دیگری در $10/8$ و یک پیک شدید در $12/6$ نشان دهنده حضور فاز کریستالی جدید است که به حضور کورکومین در نانوزئولیت اصلاح شده مربوط می‌شود [۱۶].



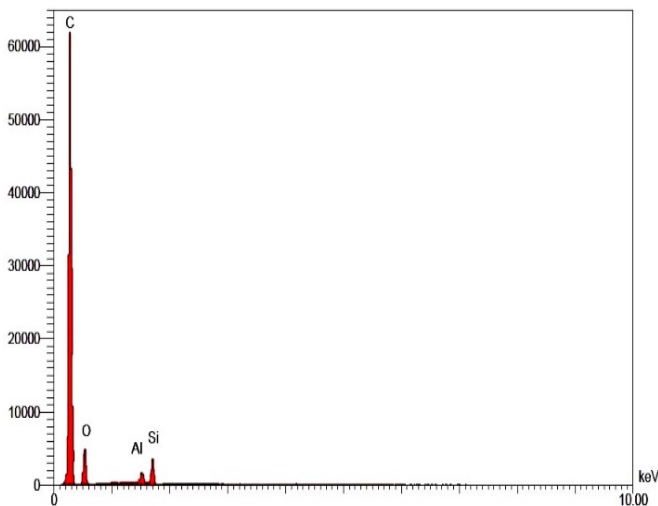
شکل ۴: الگوی پراش پرتو X نانوزئولیت اصلاح شده حامل دارو

آنالیز FT-IR

شکل ۵ (الف) طیف FT-IR نانوزئولیت ZSM-5 را نشان می‌دهد. نوار جذبی در 547 cm^{-1} مربوط به حلقه پنج‌عضوی ساختار ژئولیت و نوار جذبی در محدوده عدد موجی 1225 cm^{-1} ناشی از ارتعاش کششی پیوند T-O (T=Si or Al) می‌باشد و نوار جذبی در 791 cm^{-1} مربوط به کشش متقارن خارجی و 1094 cm^{-1} مربوط به کشش نامتقارن داخلی و نوار جذبی در 1225 cm^{-1} مربوط به خمش پیوند T-O می‌باشد. بنابراین سنتز نانوزئولیت ZSM-5 توسط تحلیل طیف سنجی زیر قرمز تایید شده است [۱۳]. شکل ۵ (ب) طیف FT-IR بتا سیکلودکسترتین و شکل ۵ (پ) طیف FT-IR ذرات ژئولیت ZSM-5 اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین را نشان می‌دهد. همانطور که در این شکل مشاهده می‌شود، نوار جذبی در 3395 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی O-H و نوار جذبی در 2928 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C-H است. علاوه بر این نوارهای جذبی در 1645 cm^{-1} و 1417 cm^{-1} و 1030 cm^{-1} و 840 cm^{-1} و 791 cm^{-1} و 547 cm^{-1} به ترتیب مربوط به واحدهای گلوکز C-O-C-O-C و حلقه‌های C-O-C و H-O-H، C-O، C و C-O هستند. طیف FT-IR نانوزئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترتین تمام نوارهای جذبی بتا سیکلودکسترتین را

آنالیز SEM

حامل دارو در شکل ۷ نشان داده شده است. اتم‌های کربن و اکسیژن، بیانگر حضور کورکومین هستند [۱۹]. همچنین حضور سیکلودکسترین به طور قابل ملاحظه ای مقدار کربن را افزایش می‌دهد [۲۰]. اتم‌های سیلیسیم و آلومینیوم حضور زئولیت را تایید می‌کنند [۲۱].

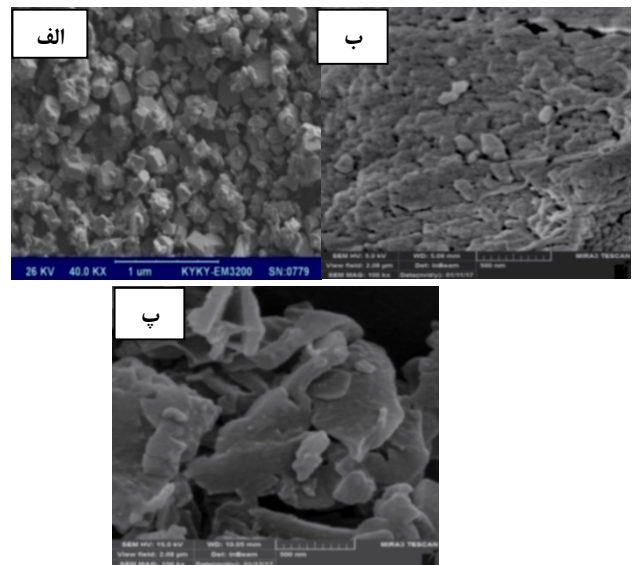


شکل ۷: طیف EDX نانوزئولیت اصلاح شده حامل کورکومین

یکی از راه‌های بررسی ریز ساختار یک ماده از جمله شکل ظاهری، ساختار سطحی، اندازه ذره‌ها، وجود ناخالصی و نسبت ترکیب ماده، استفاده از تصاویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) است. شکل ۶ (الف) تصویر SEM مربوط به نانوزئولیت ZSM-5 را نشان می‌دهد. با توجه به شکل، ذرات سنتز شده دارای ابعاد نانومتری هستند و اندازه و شکل ذرات تقریباً همگن است و کوچکترین ذره دارای اندازه ۴۴/۵ نانومتر است. شکل ۶ (ب) تصویر SEM از نانوذرات زئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترین را نشان می‌دهد. همانطور که مشخص است نانوذرات اصلاح شده با بتا سیکلودکسترین دارای ساختار توده مانند هستند و توزیع اندازه ذرات نیز تقریباً همگن است و ذرات دارای ابعاد نانومتری هستند. شکل ۶ (پ) تصویر SEM از نانوذرات زئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترین حاوی کورکومین را نشان می‌دهد. ذرات دارای ساختار لایه مانند هستند و این تغییر و دگرگونی در شکل بلورها نشان‌دهنده تشکیل کمپلکس در هم‌جای نانوذرات زئولیت اصلاح شده توسط بتا سیکلودکسترین با کورکومین است.

آنالیز TGA

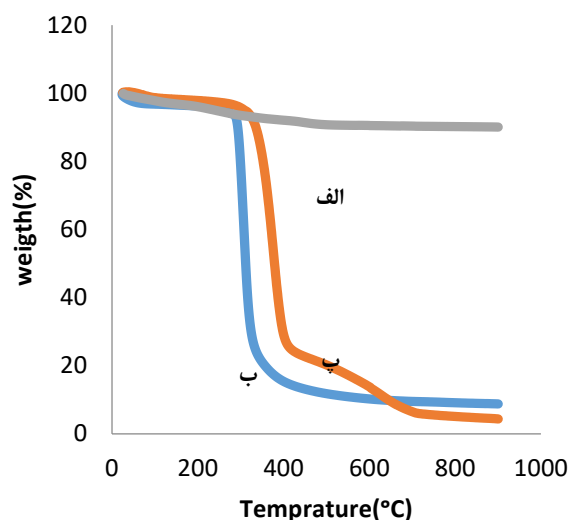
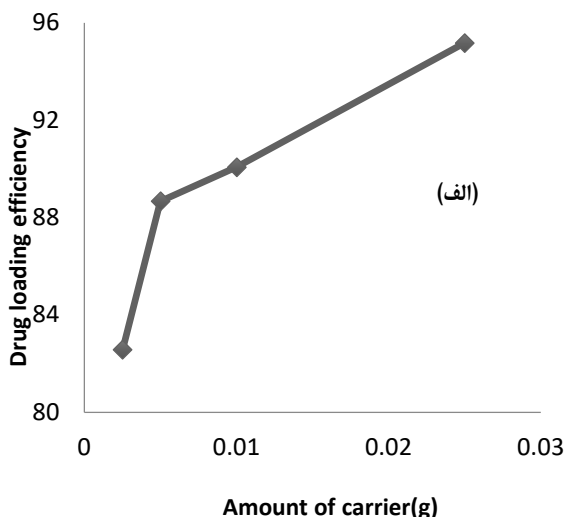
شکل ۸ منحنی ترموگراویمتری (الف) نانوزئولیت، (ب) نانوزئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترین و (پ) نانوزئولیت اصلاح شده حامل دارو را نشان می‌دهد. منحنی مربوط به نانوزئولیت بین ۲۵ تا ۸۰۰ درجه سانتی‌گراد حدود ۱۰٪ کاهش وزن نشان می‌دهد. به دلیل اینکه در نانوزئولیت سنتز شده بدون قالب آلی، تجزیه آلی در فرایند گرمایش وجود ندارد، بنابراین افت وزنی کم است و میزان وزن ازدست رفته مربوط به رطوبت نمونه و وجود ناخالصی است [۲۳ و ۲۲]. در منحنی (ب) مربوط به نانوزئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترین، نمونه در دمای بین ۳۰۰ تا ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد کاهش وزن حدود ۸۰ درصد را نشان می‌دهد. این افت وزنی می‌تواند به دلیل شکست واحدهای سیکلودکسترین و سایر ساختارهای آلی باشد [۲۴] حدود ۱۰ درصد از جرم نمونه که مربوط به زئولیت بدون قالب آلی است دارای افت وزنی نمی‌باشد و با توجه به منحنی (پ) مربوط به نانوزئولیت اصلاح شده حامل دارو، به دلیل حضور کورکومین، پایداری حرارتی نانوزئولیت اصلاح شده بهبود می‌یابد [۱۸].



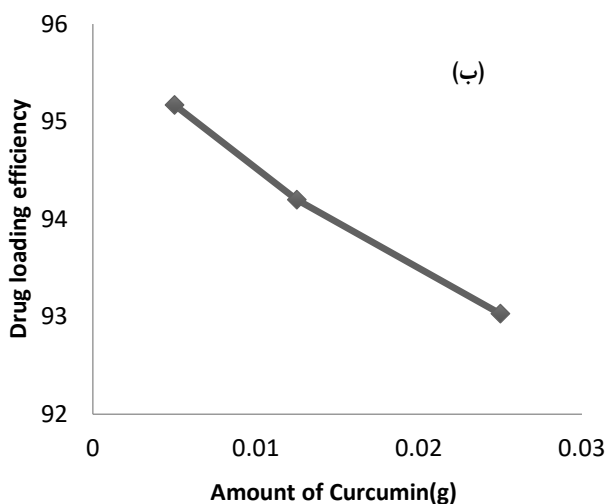
شکل ۶: تصاویر SEM، (الف) نانو زئولیت ZSM-5، (ب) نانو زئولیت اصلاح شده با بتا سیکلودکسترین، (پ) نانوزئولیت اصلاح شده حامل دارو

آنالیز EDX

برای تجزیه و تحلیل ساختاری و بررسی ترکیب عنصری نانو ذرات بدست آمده آنالیز طیف بینی پراکنش انرژی پرتو ایکس (EDX) انجام گرفت. طیف EDX مربوط به نانو ذرات زئولیت اصلاح شده



شکل ۸: ترموگرام (الف) نانوزئولیت ZSM-5، (ب) نانوزئولیت اصلاح شده با بتاسیکلودکسترین، (پ) نانوزئولیت اصلاح شده حامل دارو



شکل ۹: الف) نمودار اثر مقدار حامل بر بازده بارگذاری، ب) نمودار اثر مقدار دارو بر بازده بارگذاری

بازده بارگذاری دارو

در این قسمت باید میزان داروی آزاد توسط روش‌های دستگامی تعیین شود و از مقدار اولیه دارو (مقدار به کار برده شده برای بارگذاری) کم شود تا میزان داروی بارگذاری شده بدست آید. با استفاده از منحنی استاندارد جذب و معادله‌ای که حاصل شد، میزان غلظت محلول و داروی موجود در آن محاسبه گردید و با استفاده از اطلاعات بدست آمده و رابطه (۱) بازده بارگذاری دارو بدست آمد.

$$\% \text{loading} = \frac{C_t - C_f}{C_t} \quad (1)$$

C_f غلظت داروی آزاد و واکنش نداده است که به روش اسپکتروفوتومتری بدست آمده است و C_t غلظت داروی کل می‌باشد. همانطور که در شکل ۹ (الف) و (ب) مشخص است از بین نسبت های ۱:۵، ۱:۳، ۱:۱، ۱:۰/۵ و ۱:۰/۲، ۱:۰/۵:۱ و ۱:۱ (w/w) از کورکومین به حامل، در نسبت ۱:۵ حداکثر بازده بارگذاری صورت گرفته است، در نتیجه نسبت ۱:۵ به عنوان نسبت بهینه در نظر گرفته شد [۲۵].

بازده رهایش دارو

میزان داروی آزاد شده در بافر فسفات (pH=۷/۴ pH=۵/۵) در بازه‌های زمانی معین با استفاده از منحنی استاندارد دارو به روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۴۲۷ nm اندازه‌گیری شد. با داشتن مقدار جذب و قرار دادن در معادله کالیبراسیون می‌توان غلظت آن را در زمان‌های متفاوت و pHهای متفاوت بدست آورد و با استفاده از معادله (۲) بازده رهایش دارو قابل محاسبه است.

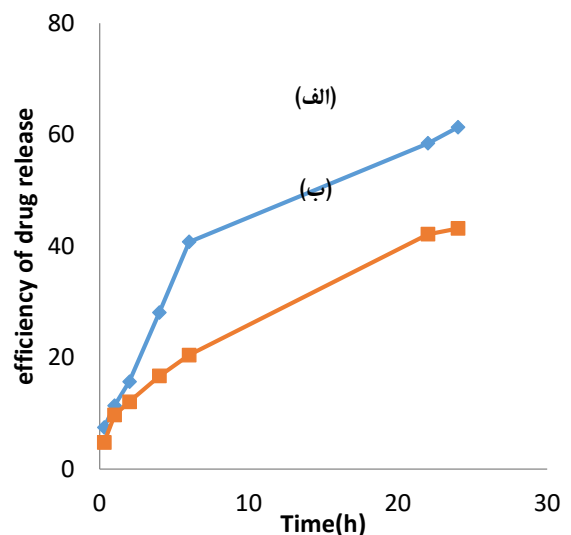
$$\% \text{Release} = \frac{C_R}{C_T} \times 100 \quad (2)$$

بارگذاری و رهایش دارو با استفاده از روش اسپکتروفتومتری UV-Vis بررسی شد. نتایج حاصل از بررسی میزان بارگذاری دارو نشان داد که بازده بارگذاری دارو در شرایط بهینه ۹۵٪ است و با مقایسه نتایج حاصل از بررسی میزان رهایش دارو در شرایط آزمایشگاهی در pH های مربوط به بافت‌های سالم و سرطانی مشاهده شد که کارایی این سیستم حامل دارو در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های سالم بالاتر است. بنابراین می‌توان نتیجه‌گرفت که اصلاح نانوزئولیت ZSM-5 با بتاسیکلودکستین و استفاده از آن به عنوان حامل داروی کورکومین می‌تواند راه حل بسیار مناسبی برای تحویل داروهای آب‌گریز به بافت هدف که دارای فعالیت دارویی نامطلوب و فراهمی زیستی پایین هستند، باشد و باعث افزایش پایداری و حلالیت دارو و همچنین افزایش سرعت جذب و اثر گذاری دارو می‌شود. این کار ایده جدیدی برای بهبود فعالیت دارویی کورکومین است که در مطالعه‌های پیشین انجام نشده است.

مراجع

- [1] T. Bein, S. Mintova, "Nanosized zeolite films for vapor-sensing applications", *Microporous and Mesoporous materials*, 50, 159-166, 2001.
- [2] W. Song, R. E. Justice, C. A. Jones, V. H. Grassian, S. C. Larsen, "Synthesis, characterization, and adsorption properties of nanocrystalline ZSM-5", *Langmuir*, 20, 8301-8306, 2004.
- [3] A. Corma, V. Fornes, F. Rey, "Delaminated zeolites: an efficient support for enzymes", *advanced materials*, 14, 71-74, 2002.
- [4] C. Platas-Iglesias, L. Van der Elst, W. Zhou, R. N. Muller, C. F. G. C. Geraldes, T. Maschmeyer, J. A. Peters, "Zeolite GdNaY nanoparticles with very high relaxivity for application as contrast agents in magnetic resonance imaging", *Chemistry - A European Journal*, 8, 5121-5131, 2002.
- [5] M. Arruebo, R. Fernandez-Pacheco, S. Irusta, J. Arbiol, M. R. Ibarra, J. Santamaria, "Sustained release of doxorubicin from zeolite-magnetite nanocomposites prepared by mechanical activation", *Nanotechnology*, 17, 4057-4064, 2006.
- [6] H. Zhang, Y. Kim, P. K. Dutta, "Controlled release of paraquat from surface-modified zeolite

C_R مقدار عملی و C_T مقدار تئوری داروی رهایش یافته بر حسب M در هر لحظه از زمان می‌باشد. با توجه به شکل ۱۰، درصد رهایش دارو در محیط اسیدی بسیار بالاتر از محیط خنثی است. مطابق شکل میزان رهایش اولیه در هر دو کمتر از ۱۰ درصد از کل داروی بارگذاری شده است. اما به تدریج میزان داروی آزاد شده در محیط اسیدی از میزان داروی آزاد شده در محیط خنثی، فاصله می‌گیرد. به طوری که بعد از ۲۴ ساعت در محیط خنثی، ۴۳ درصد از کل داروی بارگذاری شده از سطح نانوذرات وارد محلول بافر شده است، اما این مقدار در محیط اسیدی به ۶۱ درصد افزایش پیدا کرده است. این نشان می‌دهد که کارایی سیستم حامل دارو در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های سالم بالاتر است.



شکل ۱۰: مقایسه میزان رهایش دارو از نانوحامل در بافر فسفات با

الف) PH=۵/۵ , ب) PH=۷/۴

۴- نتیجه گیری

در این مطالعه، یک سیستم انتقال دارو بر پایه زئولیت اصلاح شده با سیکلودکستین با داروی ضد سرطان کورکومین جهت رهایش هدفمند دارو در سلول‌های سرطانی و بررسی اثر بخشی آن در شرایط آزمایشگاهی ایجاد شد. تعیین خصوصیات نانوذرات تهیه شده توسط پراش پرتو X، میکروسکوپ الکترونی روبشی، طیف سنج زیر قرمز تبدیل فوریه و آنالیز وزن سنجی حرارتی انجام شد و بازده

- [15] B. Tang, L. Ma, H. Wang, G. Zhang, "Study on the supramolecular interaction of curcumin and β -cyclodextrin by spectrophotometry and its analytical application", *Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1355-1361, 2002.
- [16] C. Sampaio Mangolim, C. Moriwaki, A. Claudia Nogueira, F. Sato, M. Luciano Baesso, A. Medina Neto, G. Matioli, "Curcumin- β -cyclodextrin inclusion complex: stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application", *Food Chemistry*, 153, 361-370, 2014.
- [17] I. Mallard, L. W. Stade, S. Ruellan, P. A. L. Jacobsen, K. L. Larsen, S. Fourmentin, "Synthesis, characterization and sorption capacities toward organic pollutants of new β -cyclodextrin modified zeolite derivatives", *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 482, 50-57, 2015.
- [18] M. M. Yallapu, M. Jaggi, S. Chauhan, " β -Cyclodextrin-curcumin self-assembly enhances curcumin delivery in prostate cancer cells", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79, 113-125, 2010.
- [19] B. Dhurai, N. Saraswathy, R. Maheswaran, P. Sethupathi, P. Vanitha, S. Vigneshwaran, V. Rameshbabu, "Electrospinning of curcumin loaded chitosan/poly (lactic acid) nanofilm and evaluation of its medicinal characteristics", *Frontiers of Materials Science*, 7, 350-361, 2013.
- [20] N. Izaoumen, D. Bouchta, H. Zejli, M. Kaoutit, A. Stalcup, K. Tamsamani, "Electrosynthesis and analytical performances of functionalized poly (pyrrole/ β -cyclodextrin) films", *Talanta*, 66, 111-117, 2005.
- [21] B. Louis, F. Ocampos, H.S. Yun, J.P. Tessonnier, M. Maciel Pereira, "Hierarchical pore ZSM-5 zeolite structures: from micro- to macro-engineering of structured catalysts", *Chemical Engineering Journal*, 161, 397-402, 2010.
- [22] Z. GhasemiLalehVajheh Sari, H. Younesi, H. Kazemian, "Synthesis of nanosized ZSM-5 zeolite using extracted silica from rice husk without adding any alumina source", *Applied Nanoscience*, 5, 737-745, 2015.
- Y", *Microporous Mesoporous Mater*, 88, 312-318, 2006.
- [7] I. Braschi, G. Gatti, G. Paul, C. E. Gessa, M. Cossi, L. Marchese, "Sulfonamide antibiotics embedded in high silica zeolite Y: A combined experimental and theoretical study of host-guest and guest-guest interactions", *Langmuir*, 26, 9524-9532, 2012.
- [8] H. Namazi, F. Fathi, A. Heydari, "Synthesis of β -cyclodextrin-based dendrimer as a novel encapsulation agent", *Polymer International*, 63, 1447-1455, 2014.
- [9] G. Bar-Sela, R. Epelbaum, M. Schaffer, "Curcumin as an anti-cancer agent: review of the gap between basic and clinical applications", *Current Medicinal Chemistry*, 17, 190-197, 2010.
- [10] Y. J. Wang, M. H. Pan, A. L. Cheng, L. I. Lin, Y. S. Ho, C. Y. Hsieh, J. K. Lin, "Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products", *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 15, 1867-1876, 1997.
- [11] A. Safavy, K. P. Raisch, S. Mantena, L. L. Sanford, S. W. Sham, N. R. Krishna, J. A. Bonner, "Design and development of water-soluble curcumin conjugates as potential by mechanical activation", *Nanotechnology*, 17, 4057-4064, 2006.
- [12] G. Horvath, T. Premkumar, A. Boztas, E. Lee, S. Jon, K. E. Geckeler, "Supramolecular nanoencapsulation as a tool: solubilization of the anticancer drug trans-dichloro(dipyridine)platinum(II) by complexation with β -cyclodextrin", *Molecular. Pharmaceutics*, 5, 358-363, 2008.
- [13] Y. Chen, L. Wang, J. Li, Y. C. Yang, X. Y. Sun, "Preparation and characterization of nanosized ZSM-5 zeolites in the absence of organic template", *Materials Letters*, 59, 3427 - 3430, 2005.
- [14] A. Szarpak-Jankowska, C. Burgess, L. De Cola, J. Huskens, "Cyclodextrin-modified zeolites: host-guest surface chemistry for the construction of multifunctional nanocontainers", *Chemistry*, 19, 14925-14930, 2013.

[23] Y. Cheng, L. Wang, J. Li, Y. Yang, X. Sun, "Preparation and characterization of nanosized ZSM-5 zeolites in the absence of organic template", *Materials Letters*, 59, 3427 – 3430, 2005.

[24] V. Marcolino, G. Zanin, L. Durrant, M. Benassi, G. Matioli, "Interaction of curcumin and bixin with β -cyclodextrin: complexation methods, stability, and applications in food", *Agricultural and foodchemistry*, 59, 3348–3357, 2011.

[25] S. Rahman, S. Cao, K. J. Steadman, M. Wei, H. Parekh, "Native and β -cyclodextrin enclosed curcumin: entrapment within liposomes and their in vitro cytotoxicity in lung and colon cancer", *Drug Delivery*, 19, 346–353, 2012.



Fabrication and Evaluation of β -Cyclodextrin Modified Nano Zeolite as Carrier for Curcumin

N. Rahmani, A. Bagheri Garmarudi*, M. Khanmohammadi

Chemistry Department, Faculty of Science, Imam Khomeini International University, Qazvin

Abstract: In this study, nano ZSM-0 zeolite was synthesized in the absence of organic template by hydrothermal method. In the next step for loading of curcumin in nano carrier was selected methanol reflux method. Characterization of nanoparticles was performed by X-ray diffraction, Scanning electron microscope, Fourier transform infrared spectroscopy and Thermal gravimetric analysis. Efficiency of loading and drug release was determined by UV-Vis spectrophotometry. Scanning electron microscopy showed that smallest of particle size is approximately 22 nm. Fourier transform infrared spectrometer and Thermal gravimetric analysis confirmed synthesis and functionalization of nano zeolite with cyclodextrin as well as complex formation of curcumin and modified nano zeolite. The drug loading on the surface of the nanoparticles in optimal conditions was 109. and efficiency of drug release was evaluated 209 in pH= 1.2 and 119 in pH=0.0. This indicates that the performance of the drug delivery system in tumor tissues is higher than healthy tissues. The synthesized nanocarrier is an appropriate approach for the delivery of hydrophobic drugs to the target tissue such as curcumin drug that has sub-optimal pharmacokinetics and poor bioavailability.

Keywords: Zeolite, Cyclodextrin, Drug delivery, Curcumin.