



## مشخصه‌یابی فیزیکی شیمیایی نانو حامل‌های ذرات کیتوزان پر شده بابتاسیکلودکستین/مزالازین: فرآیند آزادسازی دارو و افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی

متین کارپور<sup>۱</sup>، نینا علیزاده<sup>۱\*</sup>

۱- دانشجوی دکترا، گروه شیمی دانشکده علوم، پردیس ۲ دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۲- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۸

### چکیده

**مقدمه:** داروی مزالازین (MSZ) 5-آمینو-۲-هیدروکسی بنزوئیک اسید) یک داروی ضدالتهاب است، که معمولاً برای درمان کولیت اولسراتیو خفیف تا متوسط فعال به دلیل فعالیت زیستی آن در سلول‌های روده استفاده می‌شود. این مطالعه با هدف ایجاد یک سیستم رهایش پایدار جدید برای مزالازین (MSZ) با تهیه کمپلکس در هم جای  $\beta$ -سیکلودکستین ( $\beta$ -CD) با نانوذرات کیتوزان (CS) انجام شده است.

**مواد و روش‌ها:** کمپلکس‌های درهم جای داروی مهمان MSZ با میزبان  $\beta$ -CD و کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD اصلاح شده توسط نانوذرات کیتوزان (CS) تهیه شدند و ویژگی آنها به وسیله کاربرد روش‌های اسپکتروسکوپی UV-Vis و FTIR و  $^1\text{H-NMR}$  و SEM بررسی شدند. محاسبات روابط تشکیل کمپلکس‌های اصلاح شده و کاربرد آنها با استفاده از تجزیه و تحلیل داده‌های اسپکتروسکوپی UV-Vis انجام شد.

**نتایج:** بررسی فاز انحلال‌پذیری برای داروی MSZ در میزبان بتاسیکلودکستین طبق روش هیگوچی و کانرز انجام شد و برای آنها از نوع مدل نمودار AL مانند دیگرام فاز انحلال‌پذیری هیگوچی و کانرز  $K_{stab} = 696/462 M^{-1}$  محاسبه شد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی داروی MSZ با  $\beta$ -CD به وسیله سینتیک حذف رادیکال آزاد DPPH در مقایسه داروهای MSZ آزاد، MSZ/ $\beta$ -CD، MSZ/ $\beta$ -CD-CS، به دلیل افزایش حلالیت کمپلکس دارویی افزایش یافت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که براساس شاخص‌های بهینه‌سازی شده، نانوذرات کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD-CS، به‌عنوان نانو کره‌هایی با اندازه ذرات کوچک و بازده بالا بارگیری دارو شناخته می‌شوند. نانوذرات MSZ/ $\beta$ -CD-CS پتانسیل گسترده‌ای برای توسعه سیستم جدید انتقال داروی MSZ با مشخصات رهایش پایدار به نمایش گذاشته‌اند.

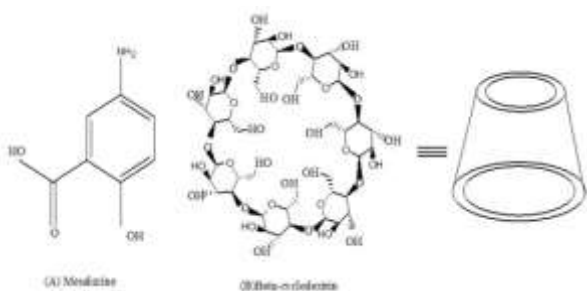
**واژه‌های کلیدی:** کمپلکس‌های اینکلوزن، بتاسیکلودکستین، مزالازین، نانوذرات کیتوزان، حامل‌های دارو.

\*نویسنده مسئول: رشت- دانشگاه گیلان- دانشکده علوم- گروه شیمی، تلفن: ۰۱۳-۳۳۳۳۲۶۲-۰۱۳، نمابر: ۰۱۳-۳۳۳۳۲۶۲-۰۱۳، Email: n-alizadeh@guilan.ac.ir

**ارجاع:** متین کارپور، نینا علیزاده. مشخصه‌یابی فیزیکی شیمیایی نانو حامل‌های ذرات کیتوزان پر شده بابتاسیکلودکستین/مزالازین: فرآیند آزادسازی دارو و افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۱؛ ۱۷(۱): ۳۰-۱۸.

## مقدمه

اسپکتروسکوپی FTIR و <sup>1</sup>HNMR مواد خالص و کمپلکس‌ها بررسی و با هم مقایسه شدند.



شکل ۱- ساختار (a) مزالازین، (b) بتاسیکلودکسترین

## مواد و روش‌ها

تمام مواد شیمیایی‌های به کار رفته در این مطالعه مانند کیتوزان با وزن مولکولی پایین و ۲، ۲'-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرزیل (DPPH) از شرکت سیگما-آلدریج خریداری شدند و اتانول، بتاسیکلودکسترین و اسید استیک از شرکت Merck خریداری و دارای خلوص آزمایشگاهی بودند.

تهیه نانو ذرات کمپلکس MSZ/β-CD-CS

ابتدا برای تهیه تمام محلول‌های موجود، مقدار ۰/۰۰۲۲ گرم MSZ و ۰/۰۰۲۲ گرم β-CD توزین و در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شدند. کمپلکس‌های مزالازین (MSZ) با غلظت مناسب ۰/۱ میلی‌مولار در حامل بتاسیکلودکسترین (β-CD) با نانوذرات کیتوزان (CS) محلول در اسیداستیک یک درصد خالص یکبار به صورت کمپلکس در همجای دوتایی و بار دیگر سه تایی ساخته شدند. کمپلکس‌های اصلاح شده با نانوذرات کیتوزان به مدت ۵ دقیقه توسط آب مقطر در دمای اتاق ۲۵°C به مقدار ۵ میلی‌لیتر آماده شدند. طیف جذب UV-Vis با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-Vis) مدل Rayleigh-uv2601 توسط سل کوارتز در محدوده طول موج ۱۹۰-۸۰۰ نانومتر تعیین شد. به منظور تعیین فاز انحلال‌پذیری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آزادسازی دارو کمپلکس در هم‌جای دارو MSZ/β-CD و MSZ/β-CD-CS در غلظت‌های ۰/۱ دهم تا ۰/۰۹ صدم mM در بالن‌های ۵ mL تهیه شدند (۲۸). طیف‌های فرابنفش-مرئی آنها برای بررسی‌ها چندین بار مشاهده و ثبت شدند (۲۹).

تجزیه و تحلیل FT-IR بر روی دستگاه اسپکتروفوتومتر FTIR (JASCO 4700) انجام شد. داده‌ها با استفاده از قرص KBr در وضوح ۴ cm<sup>-1</sup> بین محدوده عدد موج ۴۰۰-۴۰۰۰ cm<sup>-1</sup> به دست آمدند. به منظور اثبات بیشتر برهمکنش‌های میزبان-مهمان تشکیل کمپلکس در هم‌جای دارو MSZ با میزبان β-CD، با غلظت mM ۰/۱، هر کدام از نمونه‌ها دارو MSZ خالص، β-CD خالص و

دارو مزالازین (MSZ) با نام ژنریک (۵-آمینو-۲-هیدروکسی بنزوئیک اسید) که در شکل ۱ نشان داده شده است، یک داروی ضدالتهاب و ضدباکتری از گروه ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی است. در بیماری‌های مزمن التهابی روده، افزایش متابولیت‌های مسیر آراشیدونیک اسید در هر دو مسیر سیکلوآکسیژناز و لپوآکسیژناز مشاهده می‌شود که به نظر می‌رسد مزالازین از طریق مهار سیکلوآکسیژناز و کاهش تولید پروستاگلاندین در کولون باعث کنترل التهاب می‌شود. همچنین ثابت شده است که MSZ در بسیاری از بیماران با بیماری التهابی روده، به عنوان یک پاک‌کننده (Scavenger) رادیکال‌های آزاد مشتق شده از اکسیژن، عمل می‌کند (۱ و ۴). با این حال، اثر درمانی MSZ به طور قابل توجهی به دلیل حلالیت کم در آب و میزان انحلال کم آن محدود می‌شود و فقط ۲۰٪-۳۰٪ MSZ می‌تواند جذب شود زیرا از راه خوراکی تجویز می‌شود (۱ و ۵). بنابراین توسعه سیستم جدید تحویل MSZ برای به حداکثر رساندن اثر درمانی آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. دارورسانی هدفمند تلاش در جهت افزایش تجمع دارویی در محل‌هایی خاص در زمان مشخص دارد، به این دلیل تکنولوژی‌های ره‌ایش آهسته و کنترل شده دارو مطرح شدند (۶). بتا-سیکلودکسترین (β-CD) پتانسیل کاربرد گسترده‌ای را در صنعت داروسازی زیستی برای بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی و فارماکودینامیکی مولکول‌های دارو از جمله حلالیت، انتشار و پایداری از خود نشان می‌دهد (۷ و ۸). بنابراین بتا-سیکلودکسترین به طور مؤثر می‌تواند پایداری و حلالیت MSZ را افزایش دهد. کمپلکس‌های بتا-سیکلودکسترین (β-CD) با MSZ را به کمک حل کردن در حلال و روش محلول‌سازی سنتز کردند و نشان داده شد که نسبت مولی آنها یک به یک است (۱). کیتوزان (CS) با فرمول شیمیایی (C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>) که یک بیوپلیمر طبیعیست از استیل‌زدایی کیتین به دست می‌آید که به دلیل غیرسمی بودن، خاصیت جذب بالا، امکان تجزیه در طبیعت، سازگاری با محیط زیست، مقرون به صرفه بودن از نظر اقتصادی، سینتیک سریع و در نهایت امکان تهیه مشتقات فراوان از آن بسیار مورد استفاده قرار گرفته است (۱، ۱۰ و ۱۱). گنجاندن بتا-سیکلودکسترین در نانوذرات کیتوزان یک استراتژی کارآمد برای بهبود بیشتر بازده بارگیری داروهای آبریز است (۱، ۱۵ و ۱۶). در این مطالعه برهمکنش‌های بین حامل‌های دارویی میزبان سیکلودکسترین با مولکول مهمان MSZ در حضور عامل درمانی نانوذرات CS بررسی شدند. با استفاده از اسپکتروسکوپی UV-vis جذب آنها بررسی و بهبود دارو در نانوذره کمپلکس‌های اصلاح شده و کاربردهای مهم آن مشخص شدند و همچنین تمامی طیف‌ها

بزرگنمایی‌های مختلف عکس گرفته شده با ضبط تصاویر مستقیم بر روی کامپیوتر انجام شدند. حالت تصویر مورد استفاده در تصاویر الکترونیکی ثانویه (SEI) بود و نرم‌افزار Smile Shot<sup>TM</sup> تنظیمات عملیات بهینه را تضمین می‌کند (۲۰ و ۳۳).

روش تعیین خاصیت آنتی‌باکتریایی

بررسی خاصیت آنتی‌باکتری با روش بازدارنده ناحیه‌ای برای MSZ،  $\beta$ -CD و MSZ/ $\beta$ -CD انجام شد. محصولات نهایی با استفاده از باکتری‌های اشریشیاکالای (E.C) و استافیلوکوکوس اورئوس (S.A) و کنترل منفی در H<sub>2</sub>O بررسی شدند.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی MSZ/ $\beta$ -CD-CS

فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های MSZ، CS، CD، MSZ/ $\beta$ -CD و MSZ/ $\beta$ -CD-CS از نظر توانایی مهار رادیکال آنها با استفاده از دو میلی‌لیتر از معرف آنتی‌اکسیدان ۰/۱ میلی‌مولار ۲،۲'-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدریل (DPPH) در اتانول که دارای رنگ بنفش قوی است اندازه‌گیری شد. پس از واکنش با آنتی‌اکسیدان، DPPH به هیدرازین مربوطه (رنگ زرد کم رنگ) تبدیل شدند و همه محلول‌ها برای ۵ دقیقه در دمای اتاق به تعادل رسیدند. سپس سرعت حذف یک رادیکال آزاد DPPH به صورت مقدار جذب اسپکتروسکوپی فرابنفش-مرئی در طول موج ۵۱۷-۵۲۰ نانومتر برای هر کدام از آنها یکبار مشاهده و ثبت شدند. درصد حذف DPPH<sup>•</sup> توسط هر نمونه بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (۳۲).

$$AU = (A_0 - A_s) / A_0 \quad (2)$$

A<sub>0</sub> جذب کنترل و A<sub>s</sub> جذب نمونه‌های مورد آزمایش است. منحنی AU خاصیت آنتی‌اکسیدانی به صورت درصد حذف رادیکال آزاد DPPH<sup>•</sup> بیان شد (۲۰، ۲۱ و ۳۸).

دارورسانی با نانوذرات CS در آزادسازی دارو حساس به pH برای مطالعه دارورسانی حاصل از تشکیل کمپلکس اصلاح شده با نانوذرات کیتوزان (CS) در pH اسیدی درصد آزادسازی داروی MSZ به صورت زیر محاسبه شد (۴۸).

$$\% \text{ آزادسازی} = OD1 / OD2 \times 100 \quad (3)$$

جایی که OD1 = جذب MSZ آزاد و OD2 = جذب MSZ در کمپلکس بتا سیکلودکستین یا کمپلکس حاوی MSZ/ $\beta$ -CD-CS است. مقادیر جذب برای هر ۵ دقیقه در طول موج ماکزیمم MSZ ۲۰۴ نانومتر بررسی شدند (۲۱).

## نتایج

اسپکتروسکوپی UV-vis برای بررسی تشکیل کمپلکس‌های MSZ/ $\beta$ -CD-CS مقدار جذب طیف‌های اسپکتروسکوپی UV-vis برای داروی MSZ در حضور بتاسیکلودکستین ( $\beta$ -CD) و نانوذرات کیتوزان (CS) در

کمپلکس درهم‌جای MSZ/ $\beta$ -CD به صورت مناسب یک‌بار مشاهده و ثبت شدند (۳۰).

تهیه محلول‌های تعیین فاز انحلال‌پذیری

بررسی فاز انحلال‌پذیری برای داروی MSZ در میزبان بتا سیکلودکستین طبق روش هیگوچی و کانز (Higuchi and Connors) انجام شد (۲۰، ۲۲ و ۳۶). حلالیت داروی مزالازین با مقدار ۰/۰۰۲۲ گرم در آب دو بار تقطیر در دمای اتاق بررسی شد بدین صورت که محلول ذکر شده به بالن‌های حاوی بتا سیکلودکستین با غلظت‌های مختلف ۴-۰ mM و حجم ۵ ml اضافه شدند. پس از تعادل، برهمکنش کمپلکس‌های درهم‌جای این محلول‌ها با استفاده از اسپکتروسکوپی UV-Vis بررسی شدند. نمودار تشخیص فاز انحلال‌پذیری با استفاده از نقطه شروع S<sub>0</sub> که برابر داروی MSZ بدون  $\beta$ -CD است بر روی غلظت‌های مختلف بتا سیکلودکستین رسم شد (۳۴). در شکل ۲ اگر هر مولکول دارو با هر مولکول سیکلودکستین یک کمپلکس تشکیل دهد، مقدار ثابت پایداری Kc برای هر یک از کمپلکس‌های هر دارو به شرح زیر محاسبه شد (۳۵).

$$Kc = \text{slope} / S_0 \cdot (1 - \text{slope}) \quad (1)$$

S<sub>0</sub> جاییست که حلالیت MSZ در غیاب  $\beta$ -CD می‌باشد.

روش اسپکتروسکوپی <sup>1</sup>HNMR

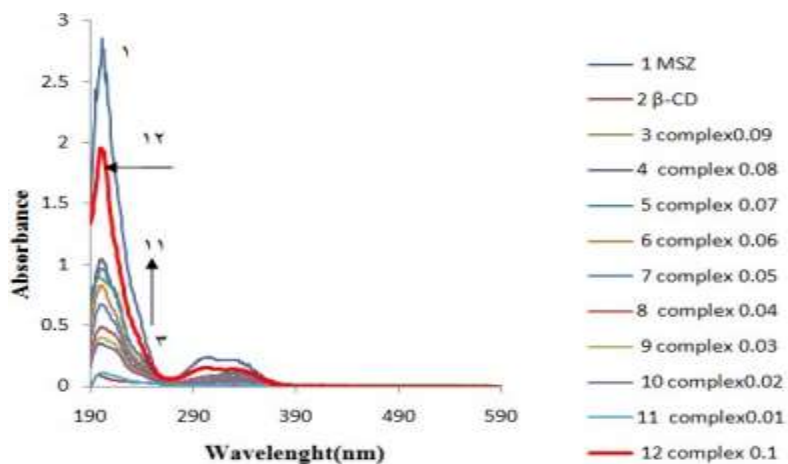
داروی MSZ،  $\beta$ -CD، کمپلکس‌های درهم‌جای MSZ/ $\beta$ -CD و کمپلکس‌های درهم‌جای اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS با استفاده از اسپکتروسکوپی رزونانس مغناطیسی هسته پروتون (<sup>1</sup>HNMR Bruker، NMR 300 MHz) مشخصه‌یابی شدند. نمونه‌های جامد خالص و کمپلکس‌های درهم‌جای آنها برای طیف‌ها هر کدام به مقدار ۰/۰۱ g تهیه شدند. محلول D<sub>2</sub>O برای هر کدام از نمونه‌های محلول آب و محلول DMSO عنوان استاندارد داخلی به کار گرفته شد. طیف‌های یک بعدی <sup>1</sup>HNMR نمونه‌های خالص و کمپلکس‌های درهم‌جای آنها در ۲۹۸ K (عدد اسکن ۶۴؛ تأخیر آرام‌سازی ۱ ثانیه) جمع‌آوری شدند (۲۰).

روش میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

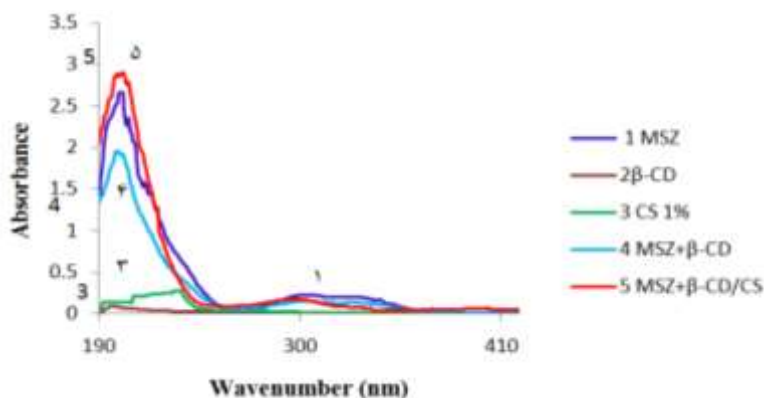
تجزیه و تحلیل سطح تمام نمونه‌ها به مقدار ۰/۰۵ g با استفاده از SEM مدل Tescan Mira III کشور سازنده: جمهوری چک انجام شد که در آن پرتو الکترونی برای تصویربرداری سطحی با بزرگنمایی بیشتر و عمق میدان بیشتر استفاده می‌شود. بررسی‌ها در یک ولتاژ شتاب‌دهنده ۱۵ kV برای نمونه‌های خالص و کمپلکس‌ها و ۱۰ kV برای نانوکمپلکس‌ها انجام شدند. نمونه‌های خشک بر روی زبانه‌های کربنی (نوار کربن دو چسبنده) که به پایه‌های آلومینیوم متصل بوده گسترش یافت (۳۲). سپس این نمونه‌ها با لایه نازک طلا پوشیده شد، سپس نمونه‌ها توسط SEM اسکن شدند و با

برای داروی MSZ تشکیل کمپلکس در هم جای آن تأیید شد و طول موج ماکزیمم ۲۰۴ nm انتخاب شد.

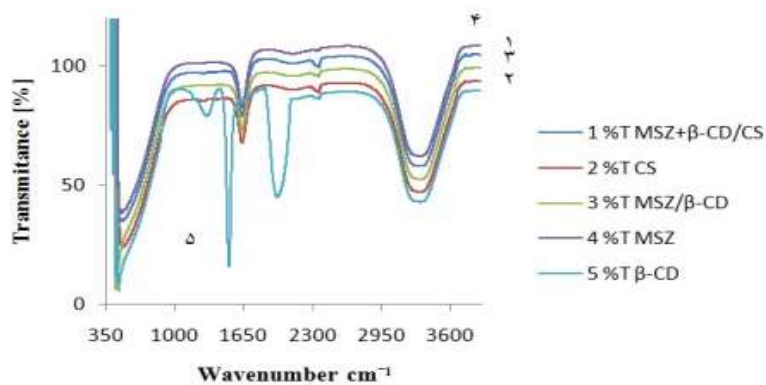
شکل ۲a و ۲b مشاهده می گردد. با بررسی مقدار جذب در طیف های اسپکتروسکوپی UV-Vis توسط میزبان بتا-سیکلودکسترین ( $\beta$ -CD)



شکل ۲a- طیف های UV-Vis برای میزبان  $\beta$ -CD و داروی MSZ و کمپلکس های MSZ/ $\beta$ -CD



شکل ۲b- طیف های UV-Vis برای میزبان  $\beta$ -CD و داروی MSZ خالص و کمپلکس های MSZ/ $\beta$ -CD در ۲۰۴ nm و کمپلکس در هم جای اصلاح شده با نانوذره کیتوزان در ۲۰۹ nm



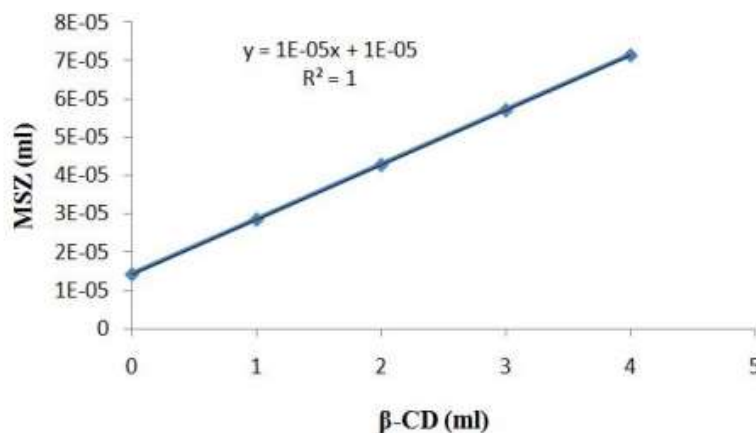
شکل ۳- طیف های FTIR، MSZ،  $\beta$ -CD، CS، ۱٪ و کمپلکس های MSZ/ $\beta$ -CD و MSZ/B-CD-CS

جدول ۱ الف- مقایسه بین شدت جذب MSZ و کمپلکس درهم جای MSZ/ $\beta$ -CD

گروه‌های عاملی	عدد موج (cm <sup>-1</sup> )		تغییرات $\Delta\delta$
	MSZ/ $\beta$ -CD-CS	MSZ/ $\beta$ -CD	
متقارن و نامتقارن $\nu$ [OH]	۳۳۵۳/۶۰۴	۳۳۸۵/۴۳۳۶	-۳۱/۸۱۹۶
NH <sub>2</sub>	۲۴۱۳/۴۷۶۳	۲۳۷۹/۷۲۸۳	۳۳/۷۴۸
-C=O	۱۶۵۶/۵۵۳۱	۱۶۴۹/۸۰۳۵	۶/۷۴۹۶

جدول ۱ ب- مقایسه بین شدت جذب MSZ/ $\beta$ -CD و کمپلکس درهم جای MSZ/ $\beta$ -CD-CS

گروه‌های عاملی	عدد موج (cm <sup>-1</sup> )		تغییرات $\Delta\delta$
	MSZ	MSZ/ $\beta$ -CD	
متقارن و نامتقارن $\nu$ [OH]	۳۳۲۷/۵۶۹۶	۳۳۵۳/۶۰۴	-۲۶/۰۳۴۴
NH <sub>2</sub>	۲۳۱۵/۵۳	۲۴۱۳/۴۷۶۳	-۹۷/۹۴۶۳
-C=O	۱۶۵۳/۶۶۰۴	۱۶۵۶/۵۵۳۱	-۲/۸۹۲۷

شکل ۴- نمودار فاز انحلال‌پذیری داروی مهمان MSZ در حضور بتاسیکلودکسترین ( $\beta$ -CD)

انحلال‌پذیری برای آنها از نوع مدل نمودار AL مانند دیاگرام فاز انحلال‌پذیری هیگوچی و کانرز (Higuchi and Connors) نشان می‌دهند (۲۳). براساس معادله (۱)،  $K_{stab} = 6.96/4.62 M - 1$  محاسبه شد. این نتیجه همچنین ثابت می‌کند که  $\beta$ -CD می‌تواند حلالیت MSZ را افزایش دهد.

جدول ۲- داده‌های محاسبه فاز قابلیت انحلال داروی MSZ با  $\beta$ -CD در کمپلکس‌های درهم جای MSZ/ $\beta$ -CD

Stotal	[ $\beta$ -CD]	C $\beta$ -CD (mM)
$1/436 \times 10^{-5}$	۰	۰
$2/872 \times 10^{-5}$	۱	$1/938 \times 10^{-5}$
$4/308 \times 10^{-5}$	۲	$2/876 \times 10^{-5}$
$5/744 \times 10^{-5}$	۳	$3/48 \times 10^{-5}$
$7/18 \times 10^{-5}$	۴	$1/395 \times 10^{-5}$

اسپکتروسکوپی <sup>1</sup>HNMR

طیف <sup>1</sup>HNMR از MSZ خالص،  $\beta$ -CD خالص و کمپلکس‌های درهم جای، در D<sub>2</sub>O به منظور بررسی فعل و انفعالات بین MSZ و  $\beta$ -CD و CS به دست آمد که در شکل ۵ نشان داده شده است. پروتون‌های خارجی پس از تشکیل کمپلکس درهم جای MSZ/ $\beta$ -CD کمی جابجا شدند. در مقابل، شیفت‌های مجزای میدان بالاتر از

نتایج با داده‌های UV-Vis مطابقت دارد و طیف کمپلکس میزبان/مهمان باند MSZ و  $\beta$ -CD را نشان می‌دهد که نشان‌دهنده تعامل ضعیف یا عدم تعامل بین ترکیبات است. سپس CS تهیه شده به محلول کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD اضافه شد. در شکل ۲b ماکزیمم طول موج کمپلکس اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS در ۲۰۹ نانومتر مشاهده شد و از MSZ/ $\beta$ -CD کاهش نشان داد و نانوذرات MSZ/ $\beta$ -CD-CS شیفت آبی نشان داد.

اسپکتروسکوپی FTIR نانوذرات کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD-CS

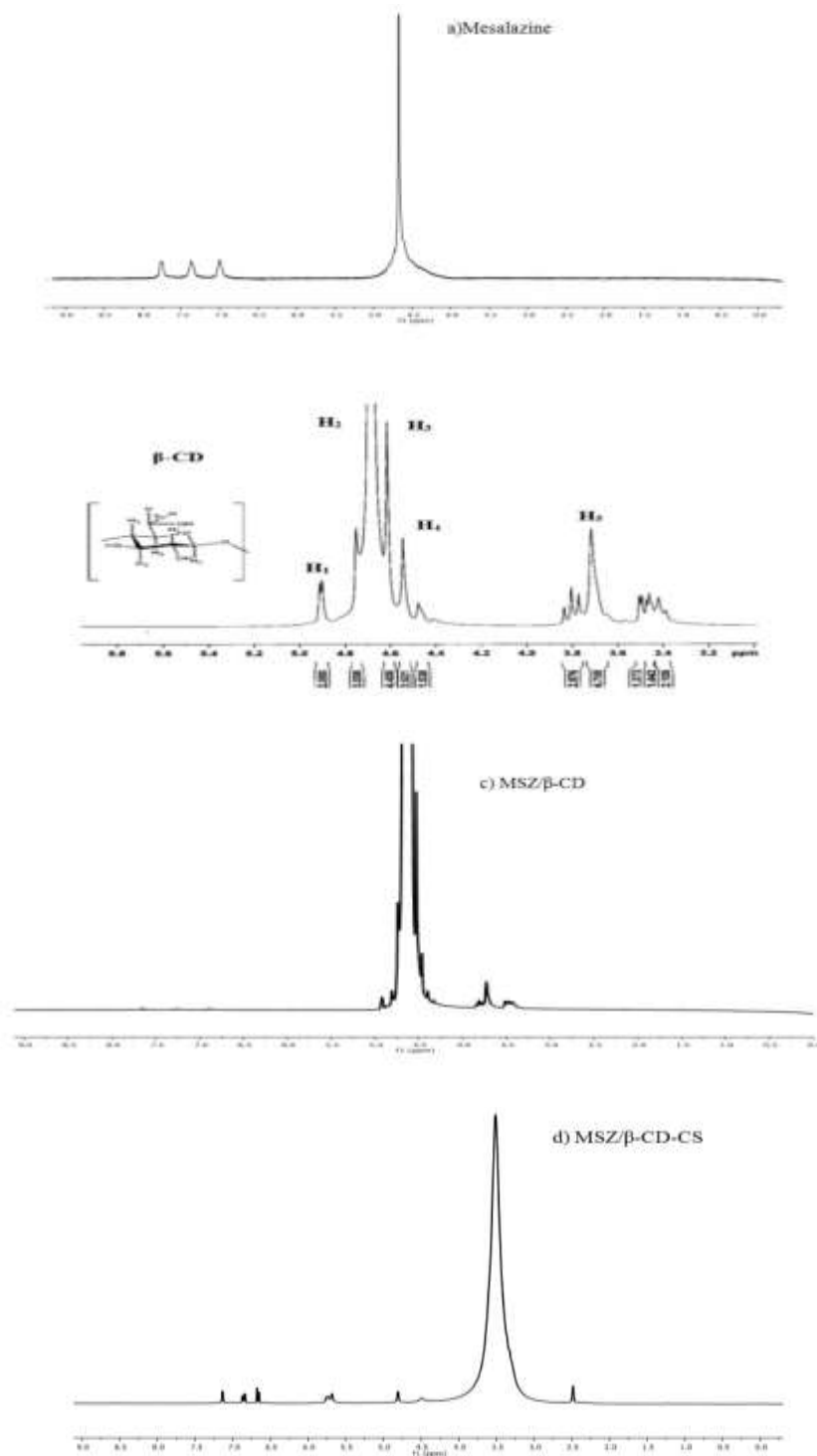
طیف‌های FTIR مربوط MSZ،  $\beta$ -CD، MSZ/ $\beta$ -CD و کمپلکس‌های MSZ/ $\beta$ -CD-CS در شکل ۳ نشان داده شده است. پیک‌های مشخص را در ۳۳۲۷/۵۶۹۶، ۲۳۱۵/۵۳ و ۱۶۵۳/۶۶۰۴ cm<sup>-1</sup> به نمایش گذاشته است.

تعیین فاز انحلال‌پذیری کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD

تجزیه و تحلیل فاز حلالیت یک روش مناسب برای نشان دادن تغییر در حلالیت دارو در هنگام تعامل با  $\beta$ -CD است و ثابت بودن پایداری را نیز می‌توان تعیین کرد. با افزودن مقادیر  $\beta$ -CD، یک افزایش حلالیت خطی برای MSZ مشاهده شد (شکل ۴)، نمودار فاز

بنابراین، تغییر مقادیر جابجایی شیمیایی ناشی از اختلاط MSZ در  $\beta$ -CD است.

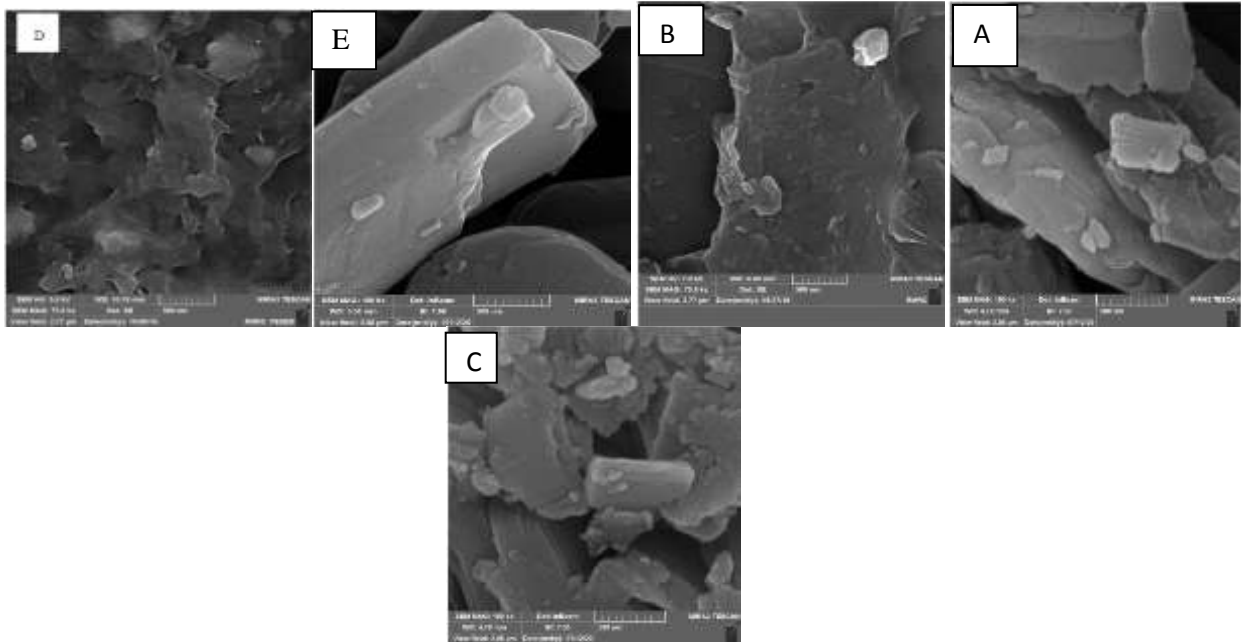
پروتون های داخلی H-3 و H-5 مشاهده شد. جابجایی های بالاتر آشکار پروتون های داخلی احتمالاً به دلیل افزایش ابر الکترون بر روی این پروتون ها پس از قرار گرفتن مولکول مهمان در حفره  $\beta$ -CD بود.



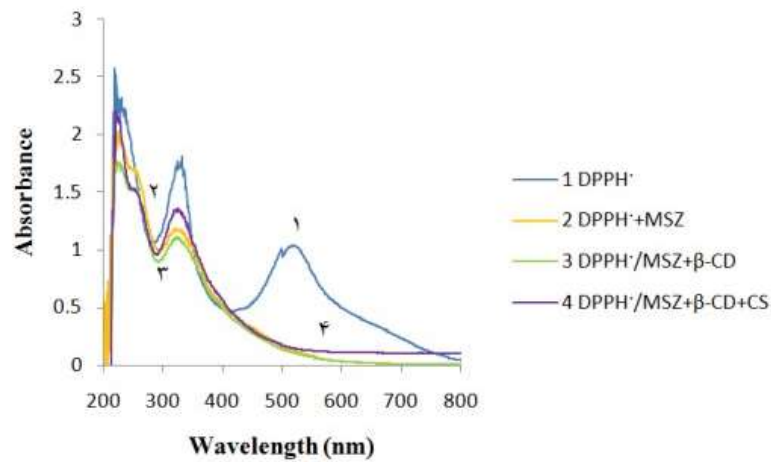
شکل ۵- طیف های HNMR الف) داروی آزاد، ب)  $\beta$ -CD خالص و ج) کمپلکس درهم جای MSZ/ $\beta$ -CD و د) MSZ/ $\beta$ -CD-CS

جدول ۵- تغییرات جابه جایی در پروتون‌های MSZ بر روی کمپلکس درهم جای MSZ/ $\beta$ -CD با نانوذرات کمپلکس درهم جای اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS

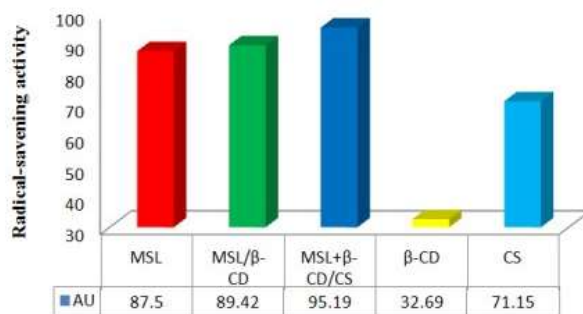
پروتون‌های MSZ	$\delta$ MSZ	$\delta$ MSZ / $\beta$ -CD	$\delta$ MSZ / $\beta$ -CD-CS	تغییرات جابه جایی $\Delta\delta 1$	تغییرات جابه جایی $\Delta\delta 2$
H3	7	7/877	5/82	1/18	1/057
H4	7/37	7/257	6/12	2/75	1/137
H6	7/75	7/648	6/31	1/44	1/328



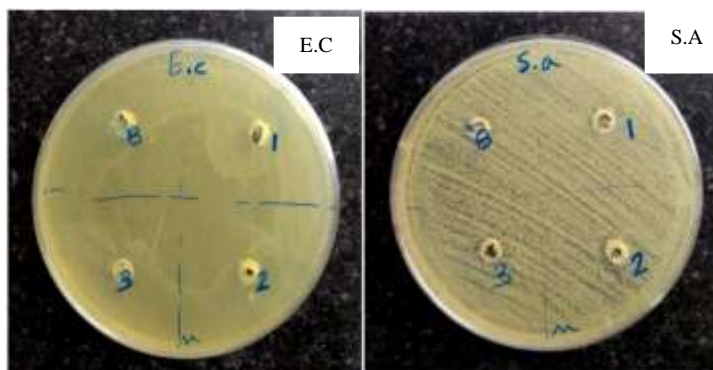
شکل ۶- بررسی SEM برای MSZ (A)،  $\beta$ -CD (B)، MSZ/ $\beta$ -CD (C)، CS (D)، MSZ/ $\beta$ -CD-CS (E)



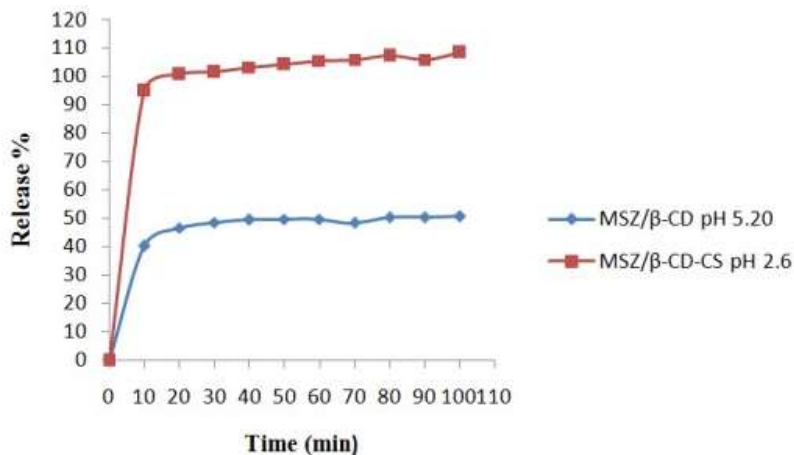
شکل ۷- طیف‌های UV-vis اثر MSZ خالص، کمپلکس‌های درهم جای MSZ/ $\beta$ -CD و MSZ/ $\beta$ -CD-CS بر روی رادیکال آزاد DPPH



شکل ۸- بررسی سرعت حذف DPPH توسط MSZ, β-CD, CS و کمپلکس های درهم جای MSZ/β-CD-CS, MSZ/β-CD



شکل ۹- بررسی خاصیت آنتی باکتریایی MSZ, MSZ / β-CD-CS و MSZ / β-CD و کنترل منفی آن



شکل ۱۰- مشخصات آزادسازی دارو از نانوذرات CS در pH=۵/۲۰ و pH=۲/۶ با استفاده از روش اسپکتروسکوپی

جدول ۴- مقایسه حذف DPPH<sup>•</sup> در حضور MSZ خالص و کمپلکس درهم جای، نانوذرات کمپلکس درهم جای در طول موج ۵۱۷ nm

نمونه ها	جذب (A)	AU
DPPH <sup>•</sup>	۱/۰۴	کنترل
MSZ	۰/۱۳	۸۷/۵
β-CD	۰/۷	۳۲/۶۹
CS	۰/۳	۷۱/۱۵
MSZ/β-CD	۰/۱۱	۸۹/۴۲
MSZ /β-CD-CS	۰/۰۵	۹۵/۱۹



ضدباکتریایی نمونه‌ها است. شکل ۹ نشان می‌دهد که MSZ، MSZ/ $\beta$ -CD و MSZ/ $\beta$ -CD-CS هیچ منطقه ضدباکتری ندارند، این نشان می‌دهد که هیچ خاصیت ضدباکتریایی ندارند.

کاربرد دارورسانی با نانوذرات CS در آزمایش آزادسازی دارو و محاسبه pH

کارایی رهایش دارو از ویژگی‌های مهم سیستم‌های انتقال دارو است. شکل ۱۰، نمودار رهایش MSZ از کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD و کمپلکس اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS را نشان می‌دهد. مشخصات آزادسازی دارو از نانوذرات CS عاملدار شده  $\beta$ -CD، در pH طبیعی ۵/۲۰ و pH= ۲/۶ با استفاده از CS در محیط اسید استیک با روش اسپکتروسکوپی بررسی شد و سرعت آزادسازی کمپلکس‌ها محاسبه و با هم مقایسه شدند.

### بحث

تغییرات جذب نانوذره کمپلکس اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS بیشتر از کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD است که نشان‌دهنده برهمکنش محکم‌تر در نانوذره کمپلکس اصلاح شده MSZ به‌وسیله پیوند قوی‌تر  $\beta$ -CD با نانوذرات CS است. افزایش قابل توجه در شدت جذب UV-Vis احتمالاً به دلیل MSZ تعبیه شده در حفره آبیگر  $\beta$ -CD بود و فعل و انفعالات مولکولی از طریق پیوند هیدروژن غیر کووالانسی یا نیروهای ون دروالسی رخ داده است (۱). نتایج محاسبه شده بیان می‌دارد که اولین حالت برانگیخته از HOMO (بالترین میزان مداری مولکولی اشغال شده) به LUMO (کمترین مداری مولکولی اشغال نشده) ناشی می‌شود که مربوط به باند جذب  $\lambda_{max}$  در طیف UV-Vis است.

طیف FT-IR شواهدی از تشکیل کمپلکس درهم‌جای MSZ/ $\beta$ -CD را نشان داده است. تغییر در باندهای مشخصه مولکول مهمان، مانند از بین رفتن یا کاهش شدت پیک، تغییر عدد موج آنها و ظهور پیک‌های جدید، می‌تواند نشان‌دهنده تشکیل کمپلکس باشد (۲۰) و (۲۲). که به ترتیب با ارتعاشات -OH، -NH<sub>2</sub>، C=O -C مطابقت دارند. تشکیل کمپلکس توسط طیف سنجی FT-IR تأیید شد (شکل ۳). با این وجود برخی از پیک‌های MSZ یا وجود نداشتند (کشش C-N) یا جایجا شدند (کشش C-O) که اشاره به تغییراتی دارد که به دلیل تشکیل کمپلکس در هم‌جای بین MSZ و  $\beta$ -CD است.

تشکیل کمپلکس درهم‌جای MSZ/ $\beta$ -CD و بررسی آن نشان داد انحلال‌پذیری داروی MSZ به‌صورت مطلوب افزایش یافته است.

مهمترین شواهد از تشکیل کمپلکس درهم‌جای MSZ/ $\beta$ -CD-CS را می‌توان از نتایج طیف سنجی NMR به‌دست آورد که مؤثرترین و مطمئن‌ترین روش برای تجزیه و تحلیل فعل و انفعالات بین پروتون‌های  $\beta$ -CD و داروها و همچنین حدس و گمان در مورد

همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود تغییرات جابه‌جایی در پروتون‌های  $\beta$ -CD در بین کمپلکس‌های درهم‌جای و کمپلکس‌های درهم‌جای اصلاح شده نشان داده شده‌اند. تمام پروتون‌ها تغییرات جابه‌جایی پروتون را نشان دادند و دلالت می‌کند که اثر متقابل آبیگری بین MSZ و  $\beta$ -CD وجود دارد.

### تصویربرداری SEM

اسکن میکروسکوپ الکترونی روبشی یک روش مناسب برای اثبات تشکیل یک کمپلکس درهم‌جای است. تصاویر SEM از داروهای MSZ و  $\beta$ -CD و CS و کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD و کمپلکس اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS در شکل ۶ نشان داده شده‌اند. تصویر SEM از CS ماهیت فیبری با ساختار ورقه‌ای بر روی سطح آن را نشان داد. اما تصویر SEM از MSZ/ $\beta$ -CD-CS کره‌های یکنواختی را در سراسر سطح نشان می‌دهد و دارای ظاهری صاف‌تر است. چون که سطح CS دارای طبیعت فیبری با تکه‌های کوچک‌تر در سراسر سطح است. در شکل ۶a وجود مزالازین باعث ایجاد یک سطح صاف و کروی می‌شود.  $\beta$ -CD به شکل نامنظم در شکل ۶b مشاهده می‌شود. MSZ/ $\beta$ -CD-CS ساختار متخلخل و تجمع‌یافته‌ای را نشان می‌دهد که نشان‌دهنده سایت‌های مؤثر کمپلکس برای MSZ است. ساختار متخلخل MSZ/ $\beta$ -CD-CS ممکن است به دلیل وجود CS با باندهای کووالانسی بین گروه‌های مختلف باشد.

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی کمپلکس‌های MSZ، CS، CD، MSZ/ $\beta$ -CD و MSZ/ $\beta$ -CD-CS

مطالعه مهار محلول اتانولیک رادیکال DPPH<sup>•</sup> نیز با استفاده از طیف‌سنجی UV-Vis انجام شد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معادله سرعت حذف رادیکال (معادله ۲) در یک طول موج مخصوص اندازه‌گیری شد که سرعت حذف یک رادیکال آزاد پایدار DPPH برای نمونه‌ها نمایش داده می‌شوند (۴۴). شکل ۷ تعیین میزان پایداری آنتی‌اکسیدانی با پذیرفتن هیدروژن بیشتر حاصل از تشکیل نانوذرات کمپلکس‌های اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS را نشان می‌دهند. در شکل ۸ مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی MSZ آزاد با کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD، نانوذرات کمپلکس اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS با رابطه (۲) محاسبه شدند.

### بررسی خاصیت آنتی‌باکتریایی

مطالعات خاصیت آنتی‌باکتریایی با استفاده از داروهای MSZ خالص، کمپلکس‌های درهم‌جای MSZ/ $\beta$ -CD و نانوذرات کمپلکس اصلاح شده MSZ/ $\beta$ -CD-CS انجام شد. محصولات نهایی با استفاده از باکتری اشرشیا کلی (E.C) و استافیلوکوکوس اورئوس (S.A) در حال حاضر آنتی‌بیوتیک با استفاده از روش انتشار دیسک غربال شد. اینکه‌هاله میکروبی در اطراف دیسک‌ها وجود ندارد نشان‌دهنده اثر

توسط نانوذرات CS عاملدار گزارش شد. بنابراین در محیط اسیدی، نانوذرات کیتوزان مقدار بیشتری از دارو را با پدیده آزادسازی پایدار رسانی می‌کند. در نمودار ۱۰ هر دو منحنی رهایش در مقایسه کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD با کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD-CS، سیستم نانوذرات MSZ/ $\beta$ -CD-CS یک نمودار رهایش بهبودیافته را به وضوح نشان می‌دهد که با رهش مداوم دارو مشخص می‌شود. یک مرحله رهایش اولیه و یک مرحله رهایش طولانی مدت در آزادسازی MSZ از سیستم نانوذرات MSZ/ $\beta$ -CD-CS مشاهده شد. رهایش پشت سر هم احتمالاً به علت تجزیه کمپلکس در هم‌جای MSZ/ $\beta$ -CD که واقع در سطح و یا لایه کم عمق از نانوذرات است می‌باشد. مرحله رهایش طولانی مدت مربوط به آزادسازی کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD بود که عمیقاً در نانوذرات CS گنجانیده شد و به دلیل از هم پاشیدگی یا تورم ماتریس پلیمری است (۱۴). در کل، نانوذرات درصد رهایش ۱۰۸٪ پس از ۹۰ دقیقه به نمایش گذاشته و در pH=۲/۶ ثابت مانده است. که به مراتب بالاتر از ۵۰٪ کمپلکس MSZ/ $\beta$ -CD می‌باشد. این نتایج نشان داد که سیستم نانوذرات MSZ/ $\beta$ -CD-CS پتانسیل گسترده‌ای برای رهایش MSZ را نشان می‌دهد. بنابراین این ویژگی نانوذرات CS بارگذاری شده داروی MSZ می‌تواند در کاربردهای زیست پزشکی مورد استفاده قرار گیرد.

از نانوذرات CS کاتیونی در ایجاد حساسیت pH اسیدی برای آزادی‌سازی MSZ به‌منظور افزایش کاربرد دارورسانی استفاده شد. براساس شاخص‌های بهینه‌سازی شده، نانوذرات MSZ/ $\beta$ -CD-CS به‌وجود آمده، جهت انتقال بار از دارو به حامل و عامل درمانی می‌باشد. نانوذرات CS کاربرد اصلاح‌کننده در تحویل هدفمند دارو MSZ را دارند. بنابراین در نتایج اصلاح کمپلکس  $\beta$ -CD با نانوذرات CS برهمکنشی قوی را با داروی MSZ نشان می‌دهد. در نتیجه میزان اصلاح شده نانوذرات  $\beta$ -CD-CS به دلیل ایجاد حلالیت بیشتر و برهمکنش قوی آن بهترین میزان به‌عنوان حامل و عامل درمانی برای داروی MSZ است.

### تشکر و قدردانی

از همکاری و حمایت گروه شیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان و پردیس دانشگاهی دانشگاه گیلان تشکر و قدردانی می‌گردد.

### References

1. Tang P, Sun Q, Zhao L, Pu H, Yang H, Zhang SH, Gan R, Gan N, Li H. Mesalazine/hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin nanoparticles with sustained release and enhanced anti-inflammation activity. *Carbohydrate Polymers* 2018;198:418-425. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.06.106
2. Hanauer S, Schwartz J, Robinson M, Roufail W, Arora S, Cello J, et al. Mesalamine capsules for treatment of active ulcerative colitis: Results of a controlled trial. *American Journal of Gastroenterology* 1993;88:1188-1197. doi:10.1111/j.1572-0241.1993.tb03114.x

پیکربندی کمپلکس در هم‌جای است (۲۴ و ۲۵). هنگامی که یک مولکول مهمان در حفره  $\beta$ -CD قرار می‌گیرد، پروتون‌ها در داخل حفره  $\beta$ -CD (H-3 و H-5) به‌طور کلی محافظت می‌شوند و یک جابجایی بالاتری را نشان می‌دهند، در حالی که پروتون‌های سطح خارجی معمولاً یک جابجایی کوچک را نشان می‌دهند (۲۷). همچنین فرض بر این است که تغییرات جابه‌جایی میدان مغناطیسی بالا، برهمکنش آبدوستی ناشی از پیوند هیدروژنی شیمیایی قوی بین مولکول‌های میزبان و مهمان را نشان می‌دهند. تغییرات جابجایی میدان مغناطیسی پایین نشان‌دهنده برهمکنش‌های واندروالس شدید هستند (۴۳) که نتایج جدول ۵ جابجایی پروتون‌ها را نشان داد.

حذف رادیکال آزاد را می‌توان به شرح زیر توضیح داد. روش تشخیص آنتی‌رادیکال DPPH<sup>۱</sup> بودن داروها مبتنی بر کاهش رادیکال آزاد (دیفنیل پیکریل هیدرازیل) به ساختار غیر رادیکال (دیفنیل پیکریل هیدرازین) در حضور یک آنتی‌اکسیدان اهداکننده هیدروژن است، مشخصه رنگ‌زدایی رادیکال آزاد تغییر رنگ محلول از بنفش تا زرد کم‌رنگ در طول موج مخصوص 517 nm خوانده شده است (۴۶). DPPH<sup>۲</sup> در شکل رادیکال، خودش در ناحیه طول موج مخصوص 517-520 nm جذب می‌کند اما به محض کاهش با یک آنتی‌اکسیدان یا یک گونه رادیکال، جذب آن کم می‌شود. افزایش توانایی آنتی‌اکسیدانی MSZ در حالت کمپلکس به افزایش حلالیت آن با تشکیل کمپلکس در هم‌جای بستگی دارد (۴۵). بنابراین تشکیل پیوند هیدروژنی درون مولکولی کمپلکس در هم‌جای داروی مهمان MSZ با میزبان  $\beta$ -CD برای افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دارو ممکن و نتیجه‌بخش است. نتایج حاضر نشان داده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی MSZ در حضور  $\beta$ -CD و CS افزایش می‌یابد. در فرمولاسیون کمپلکس حاوی نانوذرات CS خاصیت آنتی‌اکسیدان توسط گروه فنوکسی نمایش داده می‌شود که اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد است. در مورد کمپلکس‌های اصلاح شده با نانوذرات CS تخلیه DPPH<sup>۱</sup> از طریق مکانیزم الکتروفیلی پذیرفتن هیدروژن‌ها پیگیری می‌شود (۴۹).

به‌منظور وارد کردن داروی MSZ در حامل‌های بزرگ مانند سیکلودکسترین‌ها، از به‌کارگیری نانوذرات CS با کمک حلال‌ها استفاده شده است. چون دارورسانی هدفمند تلاش در جهت افزایش آزادسازی کمپلکس دارویی در محل‌هایی خاص در زمان مشخص است. به این دلیل تکنولوژی رهایش آهسته و کنترل شده دارو استفاده شدند (۴۷). رهایش MSZ با استفاده از جذب در ۲۰۴ نانومتر نسبت به زمان در دقیقه اندازه‌گیری شد. مشخصات آزادسازی دو دارو از نانوذرات CS در pH ۲/۵ تا ۲/۶ به دنبال انتشار فیکیان در محیط با سینتیک تحویل دارو Ritger Peppas است. در pH طبیعی رهایش دارو کم مشاهده شد اما در pH اسیدی انتشار بسیار بالایی از دارو

3. Thomson A B. New developments in the use of 5-aminosalicylic acid in patients with inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 1991;5:449-470. doi: 10.1111/j.1365-2036.1991.tb00515.x
4. Geier DL, Miner PB. New therapeutic agents in the treatment of inflammatory bowel disease. *American Journal of Medicine* 1992;93:199-208. doi:10.1016/0002-9343(92)90051-C
5. Yadav AV, Yadav VB. Improvement of physicochemical properties of mesalamine with hydrophilic carriers by solid dispersion (kneading) method. *Research Journal of Pharmacy & Technology* 2008;1:422-425. doi: 10.5958/0974-360X
6. Rachmawati H, Edityaningrum C A, Mauludin R. Molecular inclusion complex of curcumin- $\beta$ -cyclodextrin nanoparticle to enhance curcumin skin permeability from hydrophilic matrix gel. *AAPS Pharmaceutic Science Technology* 2013;14:1303-12. doi: 10.1208/s12249-013-0023-5
7. de Carvalho LB, Burusco K, Jaime C, Venancio T, de Carvalho A F S, Murgas LDS, et al. Murgas, et al, Complexes between methyltestosterone and beta-cyclodextrin for application in aquaculture production. *Carbohydrate Polymers* 2018;179:386-93. doi: 10.3390/biom9100545
8. Wei YQ, Zhang J, Zhou Y, Bei WY, Li Y, Yuan QP, et al. Characterization of glabridin/ hydroxypropyl- beta-cyclodextrin inclusion complex with robust solubility and enhanced bioactivity. *Carbohydrate Polymers* 2017;159:152-60. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.11.093
9. Agnihotri S A, Mallikarjuna N N, Aminabhavi T M, Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *Journal of Controlled Release* 2004;100:5-28. doi: 10.1016/j.jconrel.2004.08.010
10. Tran C D, Makuva J, Munson E, Bennett B. Biocompatible copper oxide nanoparticle composites from cellulose and chitosan: facile synthesis, unique structure, and antimicrobial activity. *ACS Applied Materials & Interfaces* 2017;9:42503-515. doi: 10.1021/acsami.7b11969
11. Yadav P, Bandyopadhyay A, Chakraborty A, Sarkar K. Enhancement of anticancer activity and drug delivery of chitosan-curcumin nanoparticle via molecular docking and simulation analysis. *Carbohydrate Polymers* 2018;182:188-98. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.10.102
12. Mitra S, Gaur U, Ghosh P C, Maitra A N. Tumor targeted delivery of encapsulated dextran-doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. *Journal of Controlled Release* 2001;74:317-23. doi: 10.1016/s0168-3659(01)00342-x
13. Yousefipour P, Atiyab F, Vasheghani-Farahani E, Movahedi A, & Dinarvand R. Targeted delivery of doxorubicin-utilizing chitosan nanoparticles surface functionalized with anti-her2 trastuzumab. *International Journal of Nanomedicine* 2011;6:1977-90. doi: 10.2147/IJN.S21523
14. Yuan Z, Ye Y, Gao F, Yuan H H, Lan K Y, Wang W. Chitosan-graft- $\beta$ - cyclodextrin nanoparticles as a carrier for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics* 2013;446:191-8. doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.02.024
15. Maestrelli F, Garcia F M, Mura P, Alonso M J. A new drug nanocarrier consisting of chitosan and hydroxypropylcyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics* 2006;63:79-86. doi: 10.1016/j.ejpb.2005.12.006
16. Ye YJ, Wang Y, Lou KY, Chen YZ, Chen RJ, Gao F. The preparation, characterization, and pharmacokinetic studies of chitosan nanoparticles loaded with paclitaxel/dimethyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. *International Journal of Nanomedicine* 2015;10:4309-19. doi:10.2147/IJN.S83508
17. Ji JG, Hao SL, Liu W Q, Wu DJ, Wang TF, Xu Y. Preparation, characterization of hydrophilic and hydrophobic drug in combine loaded chitosan/cyclodextrin nanoparticles and in vitro release study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2011;83:103-7. doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.11.005
18. Trapani A, Garcia-Fuentes M, Alonso M J. Novel drug nanocarriers combining hydrophilic cyclodextrins and chitosan. *Nanotechnology* 2008;19:185101. doi: 10.1088/0957-4484/19/18/185101
19. Malakzadeh Sh, Alizadeh N. Antioxidant, antibacterial and anti-cancer activities of  $\beta$ - and  $\gamma$ - CDs/curcumin loaded in chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 2020;S0141-8130:36535-3. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.206
20. Malakzadeh Sh, Alizadeh N. Spectroscopic study and antioxidant activity of the inclusion complexes of cyclodextrins and amlodipine besylate drug. *J Incl Phen Mac Chem* 2018;90:89-98. doi: 10.1007/s10847-017-0768-7
21. Malakzadeh Sh, Alizadeh N. Changes in chemical stability and bioactivities of curcumin by forming inclusion complexes of beta- and Gama-cyclodextrins. 2020;27:42. doi:10.1007/s10965-019-1994-z
22. Mura P. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2015;113:226-238. doi: 10.1016/j.jpba.2015.01.058
23. Higuchi T, Connors KA. Phase solubility studies In *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*. Reilly, CN.Ed.; Wiley-Interscience: New York, pp 1965;117-212. doi: 10.4236/jamp.2017.58127
24. Laura S, Lucreția U, Ionut L, Zoltan S, Adriana F, Claudiu S.  $\beta$ -Cyclodextrin inclusion complexes of lisinopril and zofenopril physicochemical characterization and compatibility study of lisinopril- $\beta$ -cyclodextrin with lactose. *J Therm Anal Calorim* 2016;123:2377-90. doi:10.1007/s10973-020-09901-7
25. Correia I, Bezzenine N, Ronzani N, Platzer N, Beloeil J C, Doan B T Doan. Study of inclusion complexes of acridine with  $\beta$ - and (2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin by use of solubility diagrams and NMR spectroscopy. *Journal of Physical Organic Chemistry* 2002;15:647-659.
26. Li Q, Pu H Y, Tang P X, Tang B, Sun Q M, Li H. Propyl gallate/cyclodextrin supramolecular complexes with enhanced solubility and radical scavenging capacity. *Food Chemistry* 2018;245:1062-9. doi:10.3390/molecules24244487
27. Tang PX, Ma XL, Wu D, Li SS, Xu KL, Tang B, et al. Posaconazole/ hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin host-guest system: Improving dissolution while maintaining antifungal activity. *Carbohydrate Polymers* 2016;142:16-23. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.01.042
28. Alexandrino G, Calderini A, Morgon N, Pessine. F. Spectroscopic (fluorescence, 1D-ROESY) and theoretical studies of the thiabendazole and  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Inclusion Phenomena and Macroscopic Chemistry* 2013;75:93-99.
29. Liu M, Dong L, Chen A, Zheng Y, Sun D, Wang X, Wang B. Inclusion complexes of quercetin with three  $\beta$ -cyclodextrins derivatives at physiological pH: Spectroscopic study and antioxidant activity. *Spectrochimica acta part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2013; doi: 10.1016/j.saa.2013.07.008
30. Ansari MJ, Ahmed MM, Fatima F, Anwer MK, Jamil S, Al-Shdefat R, Be A. Solubility and stability enhancement of curcumin through cyclodextrin complexation. *International Journal Of Biology Pharmacy and Allied Sciences (IJBPAS)* 2014;3:2668-75.
31. Bani-Yaseen AD, Moala A. Spectral, thermal, and molecular modeling studies on the encapsulation of selected sulfonamide drugs in  $\beta$ -cyclodextrin nanocavity. *Spectrochimica acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy* 2014;131:424-31. doi: 10.1016/j.saa.2014.04.136
32. Mangolim C S, Moriwak C, Nogueira A C, Sato F, Baesso M L, Neto A M and Matioli G. Curcumin- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterisation by FTIR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application. *Food Chemistry* 2014;153:361-70. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.067

33. Popat A, Karmakar S, Jambhrunkar S, Xu C, Yu C. Curcumin-cyclodextrin encapsulated chitosan nanoconjugates with enhanced solubility and cell cytotoxicity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2014;117:520-7. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.03.005
34. Jinyu L, Dandan L, Guoxin T, Zhinan Zh, Xinggang Y, Weisan P. A comparative study on the efficiency of chitosan-N-acetylcysteine, chitosan oligosaccharides or carboxymethyl chitosan surface modified nanostructured lipid carrier for ophthalmic delivery of curcumin. *Carbohydrate polymers* 2016;146:435-44. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.03.079
35. Moussa Z, Hmadeh M, Abiad MG, Dib OH and Patra D. Encapsulation of curcumin in cyclodextrin-metal organic frameworks: Dissociation of loaded CD-MOFs enhances stability of curcumin. *Food Chemistry* 2016;212:485-94. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.06.013
36. Karpkird Th, Khunsakorn R, Noptheeranuphap Ch, Jettanasen J. Photostability of water-soluble inclusion complexes of UV-filters and curcumin with gamma-cyclodextrin polymer. *Journal Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry* 2016;84:121-8. doi:10.1007/s10847-015-0589-5
37. Jyoti K, Bhatia RK, AF Martis E, Coutinho E, Jain U K, Chandra R, Mandan J. Soluble curcumin amalgamated chitosan microspheres augmented drug delivery and cytotoxicity in colon cancer cells: in vitro and in vivo study. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* 2016; 148:674-83. doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.09.044
38. Vathaluru Sudakaran Sh, Reddy Venugopal J, Puvala Vijayakumar G, Abisegapriyan S, Nirmala Grace A, Ramakrishna S. Sequel of MgO nanoparticles in PLACL nanofibers for anticancertherapy in synergy with curcumin/ $\beta$ -cyclodextrin. *Materials science and engineering C* 2016; 620-8. doi:10.1016/j.msec.2016.10.050
39. Berwin Singh SV. Water soluble complexes of curcumin and hydroxypropyl cyclodextrins: preparation and characterization. *S.C.T.I. Medical science and technology T* 2013;1-61.
40. Godinho B M D C, Ogier J R, Darcy R, ODriscoll CM, Cryan JF. Self-assembling modified  $\beta$ -cyclodextrin nanoparticles as neuronal siRNA delivery vectors: focus on Huntington's disease. *Molecular pharmacy* 2013;10:640-9. doi: 10.1021/mp3003946
41. He H, Chen S, Zhou J. Cyclodextrin-derived pH-responsive nanoparticles for delivery of paclitaxel. *Biomaterials* 2013;34:5344-58. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.068
42. Perret F, Duffour M, Chevalier Y, Parrot-Lopez H. Design, synthesis, and in vitro evaluation of new amphiphilic cyclodextrin-based nanoparticles for the incorporation and controlled release of acyclovir. *European journal of pharmaceutical biopharmacy* 2013;83:25-32. doi:10.1016/j.ejpb.2012.09.013
43. Marcolino VA, Zanin G M, Durrant LR, Benassi MT, Matioli G. Interaction of curcumin and bixin with  $\beta$ -cyclodextrin: Complexation methods, stability, and applications in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2011;59:3348-57. doi: 10.1021/jf104223k
44. Yuan Z, Ye Y, Gao F. Chitosan-graft- $\beta$ -cyclodextrin nanoparticles as a carrier for controlled drug release. *International Journal Pharmacy* 2013;446:191-8. doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.02.024
45. Zhu W, Zhang K, Chen Y, Xi F. Simple, clean preparation method for cross-linked  $\alpha$ -cyclodextrin nanoparticles via inclusion complexation. *Langmuir* 2013;29:5939-43. doi:10.1021/la400478d
46. Liu M, Chang Y, Yang J, You Y, He R, Chen T, Zhou C. Functionalized halloysite nanotube by chitosan grafting for drug delivery of curcumin to achieve enhanced anticancer efficacy. *Journal material Chemistry B* 2016; 4:2253-63. doi:10.1039/C5TB02725J.
47. Rachmawati H, Edityaningrum CA, Mauludin R. Molecular inclusion complex of curcumin-  $\beta$ -cyclodextrin nanoparticle to enhance curcumin skin permeability from hydrophilic matrix gel. *AAPS Pharmaceutical Science Technology* 2013;14:1303-12. doi: 10.1208/s12249-013-0023-5.
48. Gautam S, Karmakar S, Bose A, Chowdhury P K,  $\beta$ -Cyclodextrin and curcumin a potent cocktail for disaggregating/inhibiting amyloids: A case study with  $\alpha$ -synuclein. *Biochemistry* 2014;4: 4081-3. doi: 10.1021/bi500642f
49. Ma M, Sun T, Xing P, Li Z, Li S, Su J, Chua X, Hao A. A supramolecular curcumin vesicle and its application in controlling curcumin release. *Colloids and Surfaces A:Physicochemical and Engineering Aspects* 2014. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.03.014



## Physicochemical Characterization of Chitosan-Filled Nanocarriers of Beta-Cyclodextrin / Mesalazine: Drug Release Process and Enhancement of Antioxidant Properties

Matin Karpour (Ph.D. Student)<sup>1</sup>, Nina Alizadeh (Ph.D.)<sup>1,2\*</sup>

1- Dept. of Chemistry, Faculty of Science, University of Guilan, University Campus, Rasht, Iran.

2- Dept. of Chemistry, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

Received: 19 July 2021, Accepted: 29 November 2021

### Abstract:

**Introduction:** Mesalazine (MSZ, 5-amino-2-hydroxybenzoic acid) is an anti-inflammatory drug that is commonly used to treat mild to moderately active ulcerative colitis. This study aimed to develop a novel sustained release system for mesalazine (MSZ) by preparing  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) inclusion complex loaded chitosan (CS) nanoparticles (NPs).

**Methods:** Complexes of MSZ with modified  $\beta$ -CD were prepared by chitosan nanoparticles (CS) and characterized by using UV-Vis, FT-IR, SEM and <sup>1</sup>HNMR. Calculations of the relationships of the formation of modified complexes and their application were performed using UV-vis spectroscopic data analysis.

**Results:** Phase-solubility analysis showed AL-type diagram with  $\beta$ -CD, according to the Higuchi and Connors method, is  $K_{stab} = 696.462 M^{-1}$ . The *in vitro* tests showed that the formation of the inclusion complex increased in the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging capacity compared to the free MSZ at the same concentration.

**Conclusion:** The results revealed that under the optimized parameters, the resultant MSZ/ $\beta$ -CD-CS NPs were found to be nano-spheres with small particle size and high drug loading efficiency. Conclusively, the MSZ/ $\beta$ -CD-CS NPs exhibited vast potential for developing novel delivery systems of MSZ with a sustained release profile.

**Keywords:** Inclusion complex, Mesalazine,  $\beta$ -cyclodextrin, Chitosan, Nanoparticles, Mesalazine.

Conflict of Interest: No

\*Corresponding author: N. Alizadeh, Email: n-alizadeh@guilan.ac.ir

**Citation:** Karpour M, Alizadeh N. Physicochemical characterization of chitosan-filled nanocarriers of beta-cyclodextrin/mesalazine: drug release process and enhancement of antioxidant properties. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2022;17(1):18-30.