

Synthesis of smart polymeric micelles contains Au/Fe₃O₄ nanoparticle as a carrier for delivery of doxorubicin

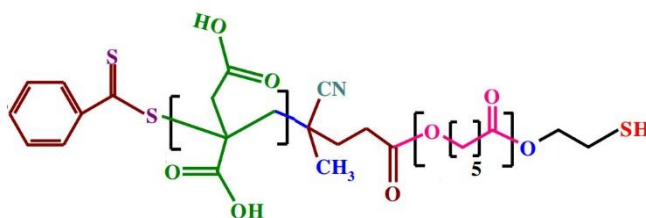
Farideh Mahmoodzadeh^{*a}, Mehdi Hosseinzadeh^{*b}

^aYoung Researchers and Elite Club, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran.

^bMarand Faculty of Technical and Engineering, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

*Email : mahmoodzadeh.farideh@gmail.com, mh_1268@yahoo.com

In recent years, innovative design and development of smart multifunctional polymeric materials for biomedical applications such as de novo drug delivery systems for enhanced delivery of therapeutic agents has been an enduring topic in polymer and material sciences^[1-4]. In this context, a novel pH-responsive thiol-end-capped AB diblock copolymer, namely poly(itaconic acid)-*block*- poly (caprolactone)-SH (PIA-*b*-PCL-SH), was synthesized using a combination of ring-opening polymerization and reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization techniques. The chemical structures of all samples were characterized by means of Fourier transform infrared and ¹H NMR spectroscopies. The molecular weight of each segment was investigated using both ¹H NMR spectroscopy and gel permeation chromatography. The self-assembly behavior of the PIA-*b*-PCL-SH diblock copolymer under pH stimuli was fully investigated by means of fluorescence and UV-visible spectroscopies as well as dynamic light scattering measurements. The critical micelle concentration for the synthesized diblock copolymer was determined to be 0.019 g L⁻¹ using the fluorescence probe technique. The average size of PIA-*b*-PCL-SH micelles was determined to be 36 nm using transmission electron microscopy observations.



Schem1: Structure of PIA-*b*-PCL-SH

References:

- [1] F. Mahmoodzadeh, M. Abbasian, M. Jaymand, A. Amirshaghghi, *Polym. Int.* **2017**, 66, 1651.
- [2] W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, W. S. Kim, Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Sci. Technol. Adv. Mater.* **2015**, 16, 023501.
- [3] S. Kayal, R. V. Ramanujan, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, 10, 5527.
- [4] Y. Ma, X. Liang, S. Tong, G. Bao, Q. Ren, Z. Dai, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, 23, 815.



سنتز مایسل های پلیمری هوشمند حاوی نانوذرات هسته/پوسته آهن -طلا به عنوان یک حامل در رهش داروی ضد سرطان دوکسوروبیسین

فریده محمودزاده^۱، مهدی حسین زاده^{۲*}

^۱ باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران.

^۲ دانشکده فنی مهندسی مرند - دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

Email : mahmoodzadeh.farideh@gmail.com, mh_1268@yahoo.com*

چکیده

یکی از مشکلات پیشروی دانشمندان در قرن حاضر، یافتن راه هایی برای تشخیص و درمان هدفمند سلولهای سرطانی می باشد . طبق آمار، سرطان پس از بیماری های قلبی عروقی وحوادث جاده ای، سومین عامل مرگ ومیر در ایران است و سالانه تعداد زیادی از مردم دنیا جان خود را بر اثر ابتلا به این بیماری ازدست می دهند؛ ازاینرو یافتن روش های جدید و کم خطر تر برای درمان این بیماری اهمیت ویژه ای خواهد داشت .یکی از ایده های نو در این حیطه سنتز نانوحامل های دارویی حساس به محیط می باشد. برای رسیدن به این هدف نانوذرات آهن -طلا با کوپلیمرهای سنتزی حساس به pH تیول دار (پلی ایتاکونیک اسید- بلاک - پلی کاپرولاکتون: (PIA-b- PCL-SH) پوشش داده شد تا علاوه بر اینکه از تجمع نانوذرات آهن-طلا جلوگیری شود، امکان گردش نانومایسل سنتزی در خون و بارگذاری دارو فراهم گردد. سپس ، بارگذاری داروی دوکسوروبیسین بر روی ترکیب سنتزی، انجام شد.تا علاوه بر اینکه اثرات جانبی دارو کاهش یابد. بیشترین کشندگی سلولهای سرطانی با استفاده از ترکیب سنتزی جدید فراهم شود.

واژه های کلیدی: نانوذرات آهن -طلا، سلولهای سرطانی، دوکسوروبیسین، کوپلیمرهای حساس به pH

1-مقدمه

سیستم های دارورسانی بر پایه فناوری نانو به سبب تغییر فارموکنتیک دارو، افزایش مدت زمان حضور دارو در جریان خون، کاهش سمیت و افزایش نیمه عمر دارو موجب بهبود چشمگیر در درمان های دارویی شده اند. تمام این ویژگی ها از انتقال هدفمند دارو میسر می شود که در این بین نقش نانو ذرات مغناطیسی به عنوان حامل های دارورسانی به خاطر داشتن ویژگی های منحصر به فرد علاوه بر ویژگی های معمول در سایر نانو مواد پررنگ تر است. خواص منحصر به فرد این نوع از نانو ذرات شامل سوپر پارامغناطیسی و فوق اشباعیت مغناطیسی



می باشد که از خصوصیات مغناطیسی ذاتی آنها منشا می گیرد. از سویی دیگر با استفاده از پوشش های سطحی مختلف می توان خواص زیست - پزشکی مطلوب و پایداری را برای این ذرات ایجاد کرد و از سمیت نانوذرات مغناطیسی که ناشی از برهم کنش های آنها با سلول یا پروتئین های بیولوژیکی می باشد، ممانعت کرد که منجر به افزایش زیست سازگاری نانوذرات مغناطیسی می شود [1].

از طرف دیگر توسعه های اخیر در علم نانو، کاربردهایی را بر پایه استفاده از نانو مواد در درمان سرطان فراهم ساخته است. مهمترین این مواد در نانوپزشکی، نانوذرات طلا می باشد. نانوذرات طلا، توانایی اتصال قوی به مولکول ها را دارند. به عبارت دیگر این دسته از نانو ذرات، دانشمندان بسیاری را به دلیل اهمیت بیولوژیکی وسیع آنها و خواص جذاب فیزیکی و شیمیایی و اسپکتروسکوپی به خود جلب کرده است. همچنین این ترکیبات به عنوان حساس کننده های نوری، به خاطر غیر سمی بودن و قرارگیری انتخابی در سلول های توموری، در درمان سرطان پرکاربرد هستند. بنابراین، می توان با طراحی نانو ذرات طلای مزدوج پوشش داده شده با میسل های پلیمری بر کاربردهای آن بسیار وسعت بخشید.

میسل های پلیمری در بردارنده یک هسته آگریز هستند که می تواند محموله های دارویی و نانوذرات فلزی را بارگیری و ذخیره کند و واجد پوسته ای آبدوست می باشد که می تواند هسته آگریز را احاطه کرده و اجزاء را از برهمکنش با سیستم فاگوسیتوزکننده تک هسته ای منع کند. تخمین زده می شود که در حدود ۴۰٪ از مولکول های کوچک که کاندیدای استفاده در داروهای جدید هستند، آگریز باشند. بهره برداری کامل از پتانسیل درمانی این داروها به انحلال پذیری آنها در فرمولاسیون غیر سمی، زیست سازگار و زیست تخریب پذیری متکی است که دارو را در حین حمل و نقل محافظت کرده و آن را در بافت هدف رها میکند [2].

پوشش نانوذرات با مایسل های پلیمری علاوه بر اینکه باعث پایداری نانوذرات در اب، کاهش سمیت، افزایش زمان گردش خون در بدن می شود. می تواند قابلیت را در سطح این نانوذرات ایجاد کند که منجر به توانایی جذب ذرات هیبریدی می باشد که توانایی آزادسازی عوامل درمانی همچون پپتیدها، پروتئین ها، DNA/ RNA، عوامل هدفمند و غیره می باشند. یکی از مهم ترین و پرکاربردترین عامل های به کار رفته در اصلاح سطح نانوذرات طلا، عامل تیول می باشد که می توانند با فرآیند کثوردینه شدن به سطح نانوذرات متصل شوند. با این حال پیوند کثوردینانسی SH/Au-NP در پایداری نانوذرات طلا بسیار پرکاربرد بوده و مورد توجه زیادی قرار گرفته است [3].

قرار گرفتن مولکول های دارویی و فعال زیستی بر روی سطح این نانوذرات سوپرمغناطیسی موجب افزایش ویژگی هدفمندی این نانوذرات می شود و نیز به صورت ویژه ای باعث ایجاد عامل تضاد با بافت نامطلوب مورد هدف قرار گرفته می شود، به گونه ای که حامل دارو برهمکنش با بافت سالم ندارد. بنابراین گسترش در این زمینه یک عامل اصلی برای تحقیق در زمینه ی نانو ذرات سوپرپارامغناطیسی را امروزه ایجاد کرده



است. بنابراین می توان یکی از روش های امیدوارکننده در افزایش غلظت نانو ذرات پارامغناطیس در بافت توموری را، اتصال این نانو ذرات با مولکول های هدفمند که دارای میل ترکیبی بالایی در هدف قرار دادن سلول های توموری می باشند، دانست.

همچنین در میان روش های درمانی نوین برای انتقال هدفمند دارو به بافت های مختلف بدن، اتصال داروها به نانو حامل ها و پوشش دادن آنها با پلیمرهای حساس به pH بسیار مورد توجه قرار گرفته است. پلیمرهای حساس به pH، حاوی گروه های یون شونده هستند که می توانند در پاسخ به تغییرات محیطی pH، پروتون بگیرند یا از دست بدهند. با تغییر pH، درجه ی یونش گروه ها در pH خاصی تغییر چشمگیری می کند و باعث تغییر حجم زنجیرهای پلیمری و تغییر حالت آگریزی و آبدوستی می شود و در زمینه ی رهش دارو بسیار پرکاربرد باشند [4]

در نتیجه در کار پژوهش حاضر سعی بر آن است کopolymerهای حساس به pH با خاصیت مایسلی به منظور پایداری و پوشش سطح نانوذرات هسته پوسته ی آهن/طلا که دارای خصوصیات و ویژگی های مناسب برای بارگیری انواع داروهای ضدسرطان و قابلیت رهش کنترل شده دارو می باشد، سنتز شود.

2-شرح آزمایش

2.1 سنتز دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT: (CTA-PCL-S)₂

(3 میلی مول، 0/8 گرم) عامل RAFT، (1/24 گرم، 6 میلی مول) دی سیکلو هگزیل کربو دی ایمید و 70 میلی لیتر دی کلرومتان به بالون ته گرد تحت گاز نیتروژن اضافه گردید. واکنش به مدت سه ساعت در دمای اتاق همزده شد. سپس (4 گرم، 0/48 میلی مول) دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون، (0/12 گرم، یک میلی مول) دی متیل آمینو پیریدین به بالون اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت 48 ساعت در دمای اتاق همزده شد. در فرآیند واکنش اوره تشکیل می شود اوره بوسیله ی کاغذ صافی جدا، زیر صافی در متانول سرد رسوب داده می شود.

2.2 سنتز پلی ایتا اسید بلوک بلوک پلی کاپرولاکتون تیول دار: PIAA- -PCL-SH

1/6 گرم ایتاکونیک اسید، 2 میلی گرم آغازگر آزوایزو بوتیرو نتریل، 1 گرم کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT، 8 میلی لیتر دی متیل سولفوکسید به بالون دو دهانه مجهز به کندانسور تحت گاز نیتروژن، اضافه شد واکنش به مدت بیست دقیقه در حمام آب و یخ گاز زدایی خواهد شد. سپس داخل حمام روغن با دمای 75 درجه ی سانتی گراد قرار می گیرد. بعد از 72 ساعت، مخلوط واکنش در دی اتیل سرد رسوب داده خواهد شد.

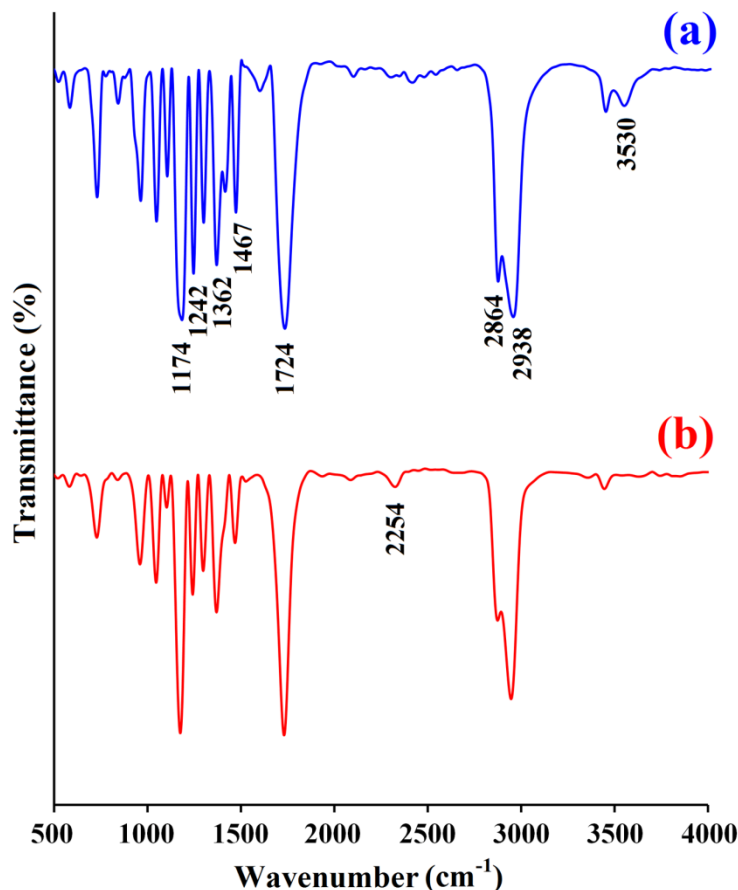
سپس (2/4 میلی گرم، 0/044 میلی مول) سدیم متوکسید، (0/15 گرم، یک میلی مول) دی تیوتریتول، (1 گرم، 0/035 میلی مول) PIA-
(b-PCL-S)₂، به بالون دارای 5 میلی لیتر حلال دی متیل سولفوکسید تحت گاز آرگون اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت سی ساعت در دمای اتاق همزده شد. پلیمر نهایی دیالیز شده و در دمای اتاق خشک خواهد گردید.

**2.3 سنتز نانوذرات هسته - پوسته ی آهن / طلا اصلاح شده با پلیمرهای هوشمند**

5 میلی گرم کوپلیمر تری بلوک تیول دار (PIAA-PCL-SH) در ده میلی لیتر دی متیل سولفوکسید حل خواهد شد. سپس 2 میلی گرم برمیلی لیتر نانوذرات هسته - پوسته ی آهن طلا به آرامی داخل محلول تحت هم زدن شدید اضافه می شود. اجازه داده می شود واکنش در عرض 24 ساعت انجام یابد تا فرآیند اتصال کامل شود. نانو کره های اصلاح شده با پلیمر برای حذف دی متیل سولفوکسید و تشکیل مایسل به داخل کیسه ی دیالیز منتقل خواهد شد.

3-نتایج و بحث**3.1 بررسی سنتز دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT**

دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT طبق شکل زیر از طریق واکنش استریفیکاسیون عامل RAFT با دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون سنتز می شود. سنتز دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT بوسیله ی آنالیزهای $^1\text{H NMR}$ و FTIR بررسی شد. طیف FTIR (شکل 1) دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون ارتعاشات کششی گروه کربونیل در 1724 cm^{-1} ، ارتعاشات کششی C-H الیفاتیکی در 2938 و 2864 cm^{-1} ، ارتعاشات خمشی -CH_2 در 1467 و 1362 cm^{-1} ، ارتعاش کششی متقارن و غیر متقارن C-O-C به ترتیب در 1174 و 1242 cm^{-1} ، ارتعاشات کششی هیدروکسی در 3530 cm^{-1} ظاهر می شود. سنتز موفقیت آمیز دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT بوسیله ی ظاهر شدن پیک های جدیدی در 2254 cm^{-1} مربوط به گروههای سیانید عامل RAFT و ناپدید شدن ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل در 3530 cm^{-1} تایید می شود.



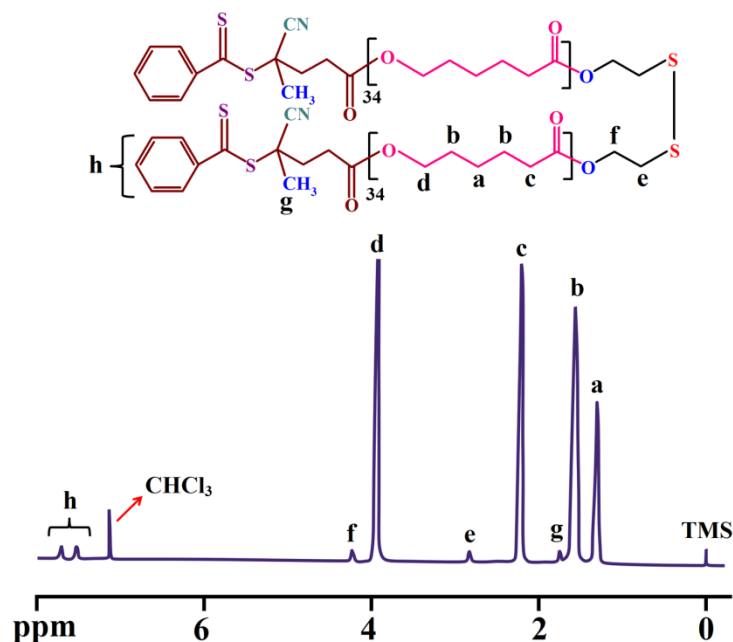
شکل 1: طیف FTIR (a) دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون، (b) دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT

3.2 دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT

سنتز دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT بوسیله ی طیف HNMR بررسی شد. پیوند عامل RAFT به دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون بوسیله ظاهر شدن پیک های هیدروژن حلقه ی اروماتیک در 7/8-7/6 مربوط به عامل RAFT تایید می شود. علاوه براین جرم مولکولی و جرم مولکولی متوسط دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT از طریق HNMR بررسی شد.

$$DP_{n,PCL} = \frac{I_d/2}{I_e/2} = 39$$

$$Mn, (PCL - S)_2 = 2 \times [DP_{n,PCL} \times M_{CL}] = 2 \times 4450 = 8900$$



شکل 2: طیف ^1H NMR دی هیدروکسی پلی کاپرولاکتون پیوندی با عامل RAFT

نانوذرات هسته - پوسته ی آهن / طلا اصلاح شده با پلیمرهای هوشمند با گروههای عاملی کربوکسیلیک اسید و تیول با ویژگی پاسخگویی به محرکهای محیطی سنتز شد. بعد از خالص سازی محصول حاصل خواص فیزیکی و شیمیایی آن با متدهای HNMR, FTIR, Zeta potential, TGA, بررسی شد. جهت اثبات ساختارهای هسته-پوسته از روش TEM و EDX استفاده شد. در طیف EDX حضور دو عنصر آهن و طلا نشان دهنده تشکیل این ساختار هسته-پوسته میباشد.. رفتار خود تجمعی کوپلیمر دی بلوک بوسیله ی آنالیز TEM بررسی شد. نتایج نشان می دهد پلی ایتاکونیک اسید بسته به پروتونه شدن و دپروتون شدن خواص آبریز و آب دوست در محلول هایی با pH های متفاوت نشان می دهد. بنابراین زنجیر پلی ایتاکونیک اسید در pH های مختلف بر اندازه ی مایسل تاثیر می گذارد و اندازه ی مایسل ها در حدود 36 نانومتر می باشد.

4-مراجع

- [1] F. Mahmoodzadeh, M. Abbasian, M. Jaymand, A. Amirshaghghi, *Polym. Int.* **2017**, 66, 1651.
- [2] W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, W. S. Kim, Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Sci. Technol. Adv. Mater.* **2015**, 16, 023501.
- [3] S. Kayal, R. V. Ramanujan, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, 10, 5527.
- [4] Y. Ma, X. Liang, S. Tong, G. Bao, Q. Ren, Z. Dai, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, 23, 815.