

رهایش آهسته داروی ضدسرطان کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره های آلومین: بررسی رفتار و سازوکار رهایش در محیط اسیدی

جابر خدادی و مریم سعیدی*
گروه بیومواد، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: 1399/10/10 تاریخ پذیرش: 1400/2/13)

ریز فناوری ابزاری برای ارتقای عملکرد سامانه‌ها در حوزه درمانی است. در این راستا، سامانه رهایش آهسته داروی ضدسرطان کربوپلاتین بر پایه حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره های آلومین برای بررسی رفتار رهایش دارو از حامل، نوع سازوکار رهایش دارو، نوع نفوذ و تعیین دیگر سنج‌های فارماکوسینتیکی انتخاب شد. در ابتدا، توزیع اندازه، قطر هیدرودینامیکی و ریخت سامانه حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره های آلومین (به نسبت 1 به 5 وزنی) با روش پراکندگی پویایی نوری و میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی بررسی شد. سپس، داروی کربوپلاتین بر روی حامل بارگذاری و درصد کپسوله شدن برابر 50/13 درصد و درصد بارگذاری 48/85 درصد محاسبه شد. رفتار رهایش دارو در محیط اسیدی که مشابه محیط بافت سرطانی شیب‌سازی شد، طی 167 ساعت با طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی ارزیابی و نشان داده شد که رهایش آهسته دارو اتفاق افتاده است. با بررسی سازوکار رهایش درجه صفر، یک و کورسمایر-پیاس، نوع سازوکار رهایش دارو از حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره های آلومین، از نوع کورسمایر-پیاس و نفوذ غیرفیکتی بود. دیگر سنج‌های سینتیکی از جمله ثابت سینتیکی رهایش دارو از حامل، سرعت اولیه رهایش دارو و غلظت بیشینه داروی رهایش یافته نیز محاسبه شد.

کلید واژه: حامل دارویی، کامپوزیت گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره های آلومین، کربوپلاتین، سازوکار رهایش

مقدمه

شدند تا ویژگی‌های درمانی و دارویی داروها را بهبود بخشند. در حال حاضر برای بسیاری از چالش‌های موجود در این سامانه‌ها راه‌حلهایی ارائه شده و بسیاری از فرمول‌بندی‌های آنها مورد تأیید و استفاده کلینیکی قرار گرفته‌اند. به هر حال پژوهش و توسعه در دارورسانی و هدف درمانی ادامه دارد و انتظار می‌رود این سامانه‌ها نوبدبخش در مان‌های دارویی راحت‌تر و موثرتر باشند [3].

ظهور ریز فناوری در حوزه دارویی و پزشکی سبب غلبه نقاط ضعف روش‌های تشخیصی و درمانی بیماری‌ها شده است [4]. شیمی‌درمانی یکی از روش‌های مؤثر در درمان بیماری سرطان است که تجویز داروهای آن با اثرهای جانبی بسیاری از جمله تهوع، ریزش مو، مشکل کلیوی و ... همراه است و استفاده از فناوری نانو می‌تواند به ایجاد رویکردهای جدید، جهت درمان موثرتر و کاهش عوارض جانبی دارو، کمک کند [5]. نانومواد گرافنی و مشتق‌های آن از جمله گرافن اکسید، گرافن اکسید کاهش یافته و آنروژل گرافن به دلیل مساحت سطح وسیع، وجود لایه‌بندی، زیست‌سازگاری و خلوص بالا گزینه مناسبی برای کاربردهای پزشکی از جمله بارگذاری دارو است. گرافن‌ها توانایی بالایی در ایجاد پیوند و اتصال به مولکول‌های متنوع به خصوص از نوع زیستی آنها مانند داروها، پروتئین‌ها و ... دارند. از سویی، قطر عرضی نانومواد گرافنی تأثیری بر روی مساحت سطح ویژه و بارگذاری دارو ندارد ولی می‌تواند در نفوذ سلولی، پاکسازی کلیوی، تخریب و دیگر پدیده‌های زیستی مؤثر باشد [6-8].

پروتئین‌ها از جمله آلومین نیز به دلیل زیست‌سازگاری، زیست تخریب‌پذیری و داشتن گروه‌های عاملی فراوان جهت پیوند دارو به آنها یکی دیگر از نامزدها برای بارگذاری دارو است [9-11]. آلومین یک پروتئین اسیدی با حل‌شوندگی بالا و در عین حال مقاوم است. در اتانول 40 درصد حل می‌شود و در pH بین 4 تا 9 پایدار است و تا دمایی 60 درجه سانتیگراد به مدت 10 ساعت دوام می‌آورد. همه این ویژگی‌ها در کنار قابلیت جذب آنها توسط تومور و بافت ملتهب، زیست‌فراهمی بالا، زیست تخریب‌پذیری و سمی نبودن، آن را یک ماده آرمانی برای رهایش

از سال‌ها قبل، آرمان اصلی پژوهش‌های دارویی مربوط به کشف و سنتز داروهای جدید توانمند با کاربرد زیستی جدید بود. به طور کلی، تهیه یک فرمول‌بندی دارویی کاملاً بی‌نقص، کاری بسیار دشوار است. این‌که یک فرمول شیمیایی به تنهایی تمامی گام‌های درمان را به‌خوبی به انجام برساند، غیرممکن به نظر می‌رسد. برای نمونه، یک داروی خوراکی برای داشتن زیست‌فراهمی آرمانی باید هم‌زمان حلالیت مناسب، نفوذپذیری مناسب، پایداری در محیط به شدت اسیدی معده و محیط بازی روده و عدم سوخت‌وساز در کبد را داشته باشد. از سوی دیگر، هر دارویی بسته به قدرت عملکردی و دوز تزریقی و عوارض جانبی که دارد، پنجره درمانی برای آن تعریف می‌شود که با روش‌های معمولی تجویز دارو از قبیل خوراکی، تزریقی و ... معمولاً دارو به‌طور ناگهانی با دوز زیادی وارد بدن می‌شود. به این علت، دارو برای مدت کمی در ناحیه پنجره درمانی باقی می‌ماند و به سرعت هم دوز آن بسته به زمان پاکسازی آن کم شده و وارد منطقه بی‌اثر می‌شود. برای حل این مشکل، از روش‌های جایگزین مانند تبدیل یک دوز تزریقی به چندین دوز متناوب و یا استفاده از سامانه‌های رهایش دارو می‌توان استفاده کرد. تزریق چند دوز متناوب کاری دشوار و زمان‌بر است اما سامانه‌های رهایش دارو با طراحی مناسب و هوشمندانه سبب ثابت ماندن سطح پلاسمای دارو در دامنه‌ای مطلوب می‌شوند و داروهای با نیمه عمر پایین با این روش از تخریب محفوظ مانده و توزیع پیوسته مقدارهای کم دارو با رهایش تنظیم شده در مقایسه با تزریق چند مرتبه دارو برای بیمار راحت‌تر است. همچنین، با توزیع موضعی دارو می‌توان از عوارض جانبی توزیع نظام‌مند که ممکن است وجود داشته باشد، جلوگیری کرد که باعث صرفه جویی در هزینه و کم‌شدن هدررفت دارو می‌شود [1 و 2]. از این رو سامانه‌های رهایش دارو مانند میکرو یا نانو اجزای لیپیدی، پروتئینی و یا پلیمری طراحی

دستگاه طیفسنج جذبی اینسترومنتس مدل T80 ساخت انگلستان، دستگاه زتاسایزر از شرکت مالورن انگلستان و دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی مدل میرا XMU-3 مورد استفاده قرار گرفتند. طیف زیرقرمز با تهیه صفحه‌های پتاسیم برمید از نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جاسکو 460 پلاس در محدوده 400 تا 4000 cm^{-1} ثبت شد.

محلول سوسپانسیون نانوذره‌های آلومین و حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین برای آزمون زتاسایزر آماده‌سازی شد. برای این منظور، 100 میکرولیتر از نمونه‌ها به طور جداگانه به 900 میکرولیتر آب دوبار تقطیر اضافه و جهت شناسایی در یخچال نگهداری شد. قبل از انجام آزمون در پژوهشگاه مواد و انرژی، به نمونه‌ها 5 دقیقه امواج فراصوت تابانده شد. برای آماده‌سازی نمونه در آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی، 200 میکرولیتر از محلول سوسپانسیون نانوذره‌های آلومین و حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین به مدت 5 دقیقه امواج فراصوت تابانده شد و سپس نمونه به طور جداگانه بر روی لام منتقل و برای یک روز در دمای اتاق خشک شد و سپس برای آنالیز به بنیاد علوم کاربردی رازی ارسال گردید.

محاسبه غلظت کربوپلاتین

در بررسی رفتار رهایش داروی کربوپلاتین از سامانه حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین نیاز به سنج‌های برای رصد دارو است. با توجه به طیف فرابنفش-مرئی دارو، مشاهده شد که کربوپلاتین در طول موج 230 نانومتر بیشترین جذب را نشان می‌دهد. پس ثبت جذب هر محلول در این طول موج می‌تواند سنج‌های برای تبدیل رفتار کربوپلاتین به داده قابل تجزیه و تحلیل باشد. از سویی، طبق قانون بیرلامبرت (معادله 1)، جذب طبق معادله زیر با غلظت مرتبط است:

$$A = \epsilon b C_t \quad (1)$$

در این معادله A جذب، ϵ ضریب جذب نمونه، C_t غلظت دارو و b طول سل و برابر 1 سانتی‌متر است. با رسم منحنی جذب برحسب غلظت‌های مختلف تهیه‌شده کربوپلاتین از 0 تا 0/067 میلی‌مولار، معادله بهترین خط راست به‌دست آمده و سپس برای هر محلول با غلظت نامشخص، جذب نمونه ثبت و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت آن محاسبه می‌شود.

بارگذاری کربوپلاتین در حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین

برای بارگذاری کربوپلاتین در حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین، 2 میلی‌گرم از داروی کربوپلاتین در 2 میلی‌لیتر محلول بافر فسفات حل و به 1 میلی‌لیتر محلول سوسپانسیون حاوی 2 میلی‌گرم از حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین (1 به 5 وزنی/وزنی) افزوده شد. سپس، این ترکیب به مدت 24 ساعت با سرعت 400 دور بر دقیقه در دمای محیط و در ظرف در بسته به‌هم خورد تا بارگذاری دارو در حامل طراحی‌شده، انجام شود. سپس، سوسپانسیون دارای دارو و حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته / نانوذره‌های آلومین به فالکن منتقل و به مدت 10 دقیقه با سرعت 11000 دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، محلول روی صافی جدا و با ثبت جذب، مقدار

دارو می‌کند. آلومین در بافت‌های ملتهب و خوش‌خیم به علت مویرگ‌های نشستی و سامانه نشستی لنفاوی معیوب، تجمع می‌یابد. پژوهش‌ها نشان داده است که تنها چند ساعت بعد از تزریق، آلومین در تومورهای در حال رشد تجمع پیدا کرده‌اند. برای اولین بار در میانه قرن بیستم، گزارشی نشان داد که تومورها، پروتئین‌های پلاسما را گیر انداخته تا با تجزیه آنها مواد مغذی برای رشد خود فراهم کنند. همچنین به علت پدیده‌های زیستی موجود در تومورها مانند پدیده افزایش نفوذپذیری و احتباس و عروق خونی معیوب، جذب این درشت‌مولکول‌ها در تومورها بهتر اتفاق می‌افتد، زیرا در شرایط التهابی یا رشد تومور، رگ‌های ناقص افزایش یافته و منافذ آنها در سلول‌های انوتلیال عروق که محل عبور دارو برای رسیدن به هدف است، 200 تا 300 نانومتر بوده و از آنجا که رشد تومور سریع است، تخلیه لنفاویک نیز کامل انجام نشده و در نتیجه در محل تومور، تجمع دارو به دلیل افزایش نفوذپذیری و ماندگاری بیشتر دارو به دلیل تخلیه ناقص لنفاویک مشاهده می‌شود [12-15].

به این ترتیب، برای کاهش اثرهای جانبی و افزایش اثربخشی داروهای ضدسرطان، طراحی سامانه رهایش داروی برپایه ریزفناوری ضروری به نظر می‌رسد. طبق مزیت‌های بیان شده برای مواد گرافنی، پروتئین‌ها و نیز کاربرد ریزفناوری در رهایش دارو، در این پژوهش، گرافن اکسید کاهش‌یافته و نانوذره‌های آلومین به عنوان حامل جهت رهایش داروی ضدسرطان کربوپلاتین مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، عملکرد، سازوکار و نوع رفتار سامانه رهایش داروی ضدسرطان کربوپلاتین برپایه صفحه‌های گرافن اکسید کاهش‌یافته و نانوذره‌های آلومین در محیط برون‌تنی و اسیدی برای شبیه‌سازی بافت سرطانی در تزریق موضعی دارو با بررسی شد. سامانه حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین به نسبت وزنی 1 به 5 به عنوان الگوی اولیه سامانه جدید حامل دارو، انتخاب و ریخت و توزیع اندازه ذره‌ها با زتاسایزر و میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی بررسی شد. داروی کربوپلاتین بر روی این حامل بارگذاری و پس از محاسبه درصد بارگذاری و کپسوله‌شدن، رفتار رهایش کربوپلاتین در محیط اسیدی طی 7 روز با طیفسنجی جذبی رصد شد. نتایج حاصل از رهایش دارو از لحاظ سازوکار رهایش دارو، نوع نفوذ و دیگر سنج‌های سینتیکی ارزیابی شد. امید است نتایج حاصل بتواند حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین را به عنوان راهگشایی برای بررسی گسترده‌تر و سرانجام انتخاب به عنوان سامانه رهایش آهسته داروی ضدسرطانی معرفی کند.

مواد و روش‌ها

بافر فسفات، گرافن اکسید کاهش‌یافته، کیسه دیالیز 12 کیلوالتون و داروی ضدسرطان کربوپلاتین از شرکت سیگما-آلدریج و کلریدریک اسید از شرکت مرک آلمان خریداری شد. حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/نانوذره‌های آلومین توسط همین گروه پژوهشی و بر پایه دو مقاله قبل سنتز شد [4] و [16]. در همه آزمایش‌ها از آب دوبار تقطیر استفاده شد. دستگاه اندازه‌گیری pH مدل متروهم 827 با دقت یک صدم، دستگاه حمام فراصوت سونوویس ساخت کشور سوئیس مدل SW6H، همزن مغناطیسی با قابلیت تنظیم سرعت ساخت شرکت وایزاستیر کره جنوبی،

که C_t غلظت داروی رهائش‌یافته در هر زمان و C_0 غلظت کل داروی بارگذاری شده است. با رسم منحنی درصد رهائش دارو برحسب زمان، رفتار رهائشی بررسی شد.

سازوکار رهائش کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/ناتوذره‌های آلبومین

برای ارزیابی سازوکار رهائش دارو [18]، الگوهای رهائش برون‌تنی با استفاده از سه الگوی سینتیکی درجه صفر، درجه اول و کورسمایر پیاس تجزیه و تحلیل شد. الگوی درجه صفر به انحلال دارو مرتبط بوده و مستقل از غلظت دارو است.

$$C_t = C_0 + k_0t \quad (6)$$

که در آن C_t غلظت داروی حل‌شده در زمان t ، C_0 غلظت اولیه دارو (که معمولاً صفر است) و k_0 ثابت سرعت درجه صفر است. الگوی سینتیکی درجه صفر از طریق رسم غلظت تجمعی دارو در مقابل زمان به‌دست می‌آید.

الگوی درجه اول، رهائش دارویی را توصیف می‌کند که وابسته به غلظت است.

$$\log(C_t/C_0) = -k_1t/2.303 \quad (7)$$

که در آن C_t و C_0 مشابه معادله درجه صفر و k_1 ثابت سرعت درجه اول است. با رسم منحنی $\log C_t/C_0$ برحسب زمان، شیب برابر $-k_1 \times 1/2.303$ بدست می‌آید.

$$\ln C_t/C = \ln k_K + n \ln t \quad (8)$$

که C_t/C مقدار داروی آزادشده تجمعی در زمان t ، k_K ثابت سینتیکی و n سازوکار نفوذ را توصیف می‌کند، به طوری که اگر n کوچکتر از 0/43 باشد، نوع نفوذ فیکو و اگر بین 0/43 تا 1 باشد، نفوذ غیرفیکو است [19]. در الگوی کورسمایر پیاس، معمولاً 60 درصد ابتدای نتایج رهائش دارو برای تعیین بهترین الگوی رهائش کافی است. با رسم منحنی $\ln C_t/C$ برحسب $\ln t$ ، شیب خط برابر n و عرض از مبدأ برابر $\ln k_K$ خواهد بود. الگوی کورسمایر پیاس، سازوکار نفوذ و رهائش دارو از ماتریس تخریب‌پذیر و سامانه‌های پلیمری را توصیف می‌کند. انتخاب سازوکار رهائش وابسته به معادله بهترین خط راست با R^2 برابر 0/99 است. دیگر سنج‌های سینتیکی رهائش از رابطه زیر محاسبه می‌شود [16]:

$$t/C_t = \alpha + \beta t \quad (9)$$

که C_t غلظت داروی رهائش‌یافته در زمان t ، α برابر k_{rel}^2 / C_{max}^2 است که C_{max} و k_{rel} به ترتیب بیشینه مقدار داروی رهائش‌یافته و ثابت سینتیکی رهائش است. همچنین، برابر با معکوس سرعت رهائش اولیه (T_0) و β برابر با معکوس C_{max} است. رسم منحنی زمان بر غلظت برحسب زمان، عرض از مبدأ برابر α و شیب برابر β خواهد داشت.

داروی بارگذاری‌نشده محاسبه شد. در پایان، به ماده ته نشین‌شده داخل فالکن (حامل حاوی داروی بارگذاری‌شده)، 5 میلی لیتر بافر فسفات اضافه و به مدت 5 دقیقه به آن امواج فراصوت تابانده شد تا سوسپانسیون جهت انتقال به کیسه دیالیز آماده شود.

محاسبه درصد کپسوله‌شدن و بارگذاری کربوپلاتین در حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/ناتوذره‌های آلبومین

برای محاسبه بازده کپسوله‌شدن، (%EE)، و درصد بارگذاری داروی کربوپلاتین، (%DL)، درون حامل از معادله‌های 2 و 3 استفاده شد [17].

$$\%EE = C/C_0 \times 100 \quad (2)$$

$$\%DL = C/C_{carrier} \times 100 \quad (3)$$

به طوری که C/C_0 نسبت مقدار کربوپلاتین بارگذاری‌شده در مقدار حامل به مقدار اولیه دارو و $C/C_{carrier}$ نسبت مقدار کربوپلاتین بارگذاری‌شده در حامل به مقدار حامل است.

رهائش کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/ناتوذره‌های آلبومین

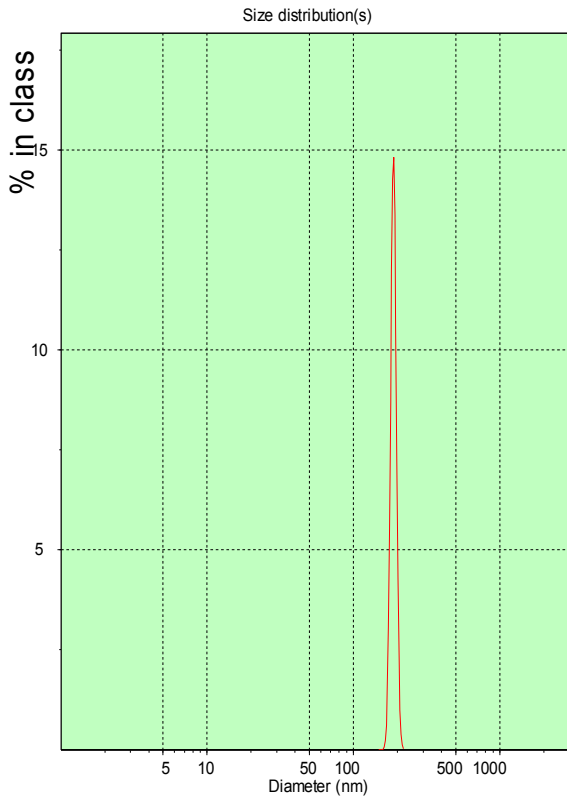
مقدار رهائش کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش‌یافته/ناتوذره‌های آلبومین با استفاده از روش کیسه دیالیز قابل اندازه‌گیری است. در این آزمایش، 3 میلی‌لیتر از سوسپانسیون حامل داروی بارگذاری‌شده به کیسه دیالیز منتقل شد. کیسه دیالیز درون بشر حاوی 15 میلی‌لیتر بافر فسفات با pH برابر 5/5 قرار داده شد و با سرعت 300 دور بر دقیقه به‌هم زده شد. سپس، در بازه‌های زمانی مشخص، 3 میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات به فالکن مجزا منتقل شد. از آنجا که حجم محلول داخل بشر کمتر شده، برای ثابت نگه داشتن حجم کل بافر فسفات در بشر (15 میلی‌لیتر)، به همان مقدار محلول بافر فسفات به بشر در بسته اضافه شد تا بتوان غلظت داروی رهائش‌یافته را به صورت تجمعی محاسبه کرد. برای به دست آوردن غلظت داروی رهائش‌یافته از حامل، جذب نمونه‌های جمع‌آوری شده در فالکن‌های مختلف با دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-مرئی در طول موج 230 نانومتر ثبت و با استفاده از معادله استاندارد کربوپلاتین، غلظت داروی رهائش‌یافته در هر زمان اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول زیر، غلظت تجمعی داروی رهائش‌یافته محاسبه شد:

$$C_t = C_b + C_a \quad (4)$$

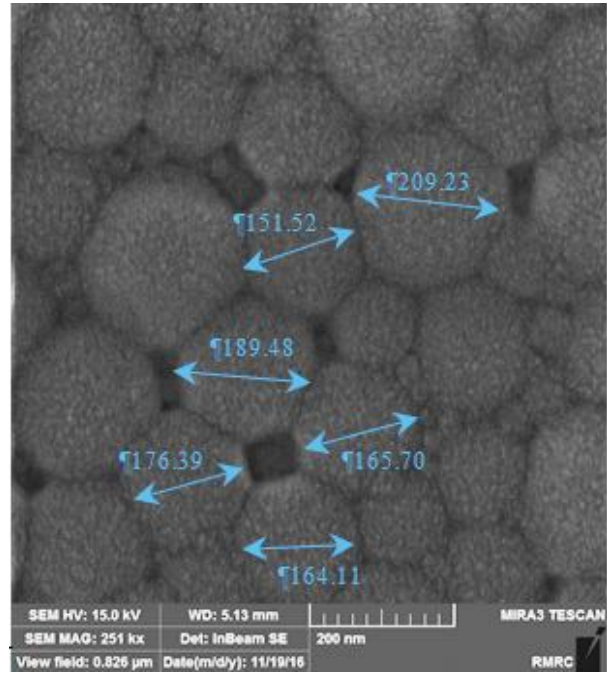
که C_t غلظت داروی رهائش‌یافته در هر زمان، C_b غلظت داروی رهائش‌یافته در زمان b و C_a کل غلظت داروی رهائش‌یافته قبل از زمان b است. منظور از زمان b ، هر زمانی است که در آن محلول برداشته و به فالکن منتقل شده است.

جهت محاسبه درصد رهائش دارو از حامل در زمان‌های مختلف، غلظت تجمعی، از معادله زیر استفاده شد:

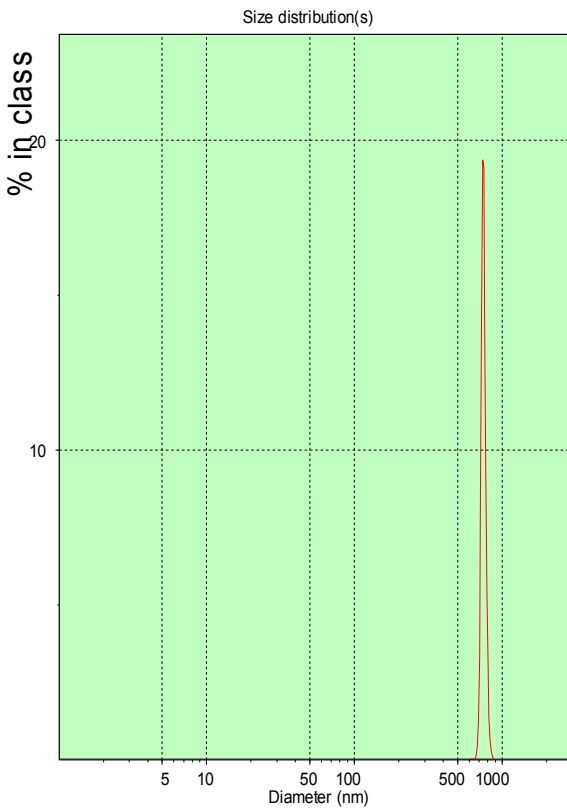
$$\%Cumulative\ release = C_t/C_0 \times 100 \quad (5)$$



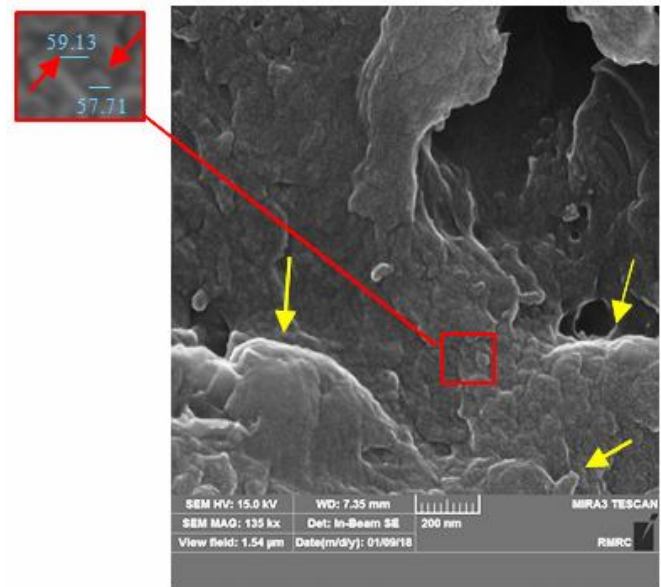
الف



ب

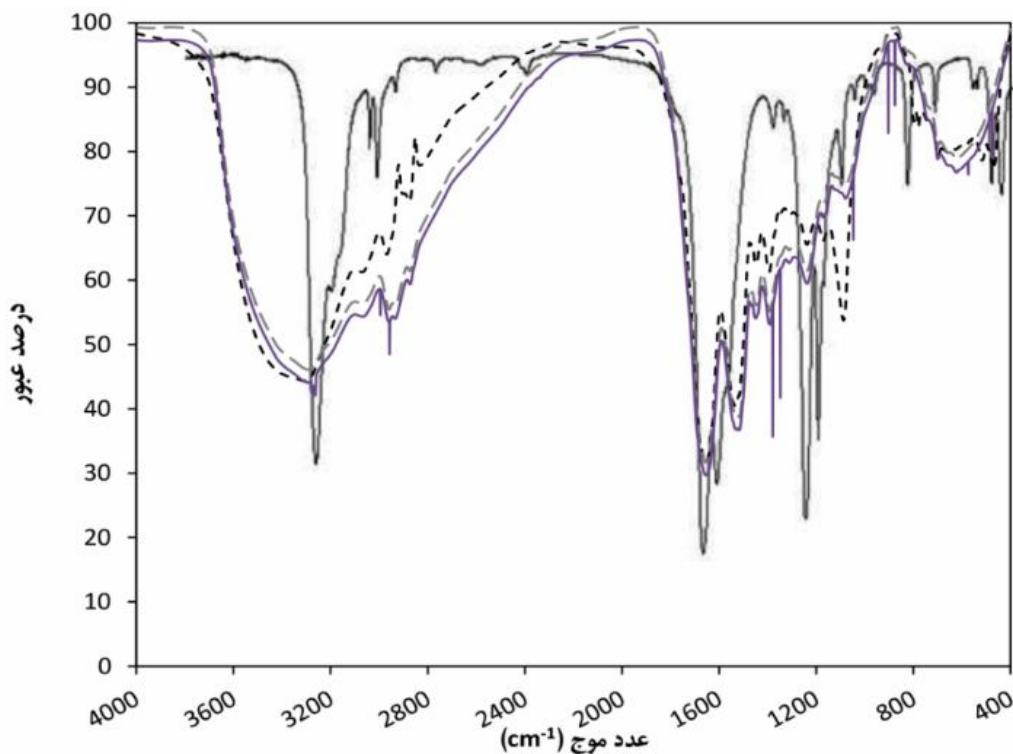


ج



د

شکل 1. اندازه و ریخت نانوذره های آلبومین (الف و ب) و حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره های آلبومین (ج و د).



شکل 2. طیف زیرقرمز کربوپلاتین (خط مشکی)، نانوذره‌های آلومین (خط چین مشکی)، حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره‌های آلومین (خط چین آبی) و کربوپلاتین بارگذاری شده در حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره‌های آلومین (خط پیوسته بنفش).

Image J محاسبه شد.

نتایج و بحث

بررسی‌ها در استفاده از حامل‌های پایه کربنی نشان داده است که اندازه آنروژل گرافن حامل داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین، 755 نانومتر، نانوهیبرید گرافن اکسید و پلی‌اپی‌کلروهیدرین برای رهایش همزمان کورکومین و دوکسوروبیسین، میکرومتری و اندازه گرافن اکسید متصل به سیلیکات و نانوذره‌های طلا 605 ± 295 نانومتر است [24-22]. در نتیجه، قطر هیدرودینامیک حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره‌های آلومین به عنوان حامل دارو، در محدوده ترکیب‌های گزارش شده است با این تفاوت که اندازه آن از حامل گرافن اکسید و پلی‌اپی‌کلروهیدرین کمتر و توزیع اندازه ذره‌های آن از حامل گرافن اکسید متصل به سیلیکات و نانوذره‌های طلا به مراتب یکنواخت‌تر است.

بارگذاری کربوپلاتین در حامل گرافن اکسید کاهش یافته / نانوذره‌های آلومین

برای بررسی بارگذاری دارو در حامل، درصد کپسوله‌شدن و بارگذاری طبق معادله‌های 2 و 3 محاسبه و نشان داده شد که درصد کپسوله شدن 50 و درصد بارگذاری دارو 49 درصد است که با توجه به بررسی‌های قبلی در زمینه بارگذاری داروهای ضدسرطانی، این مقدار بیشتر است. برای نمونه، درصد کپسوله‌شدن و درصد بارگذاری برای داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین در حامل گرافن اکسید به ترتیب 29/4 و 23/5 درصد و در حامل گرافن اکسید/آهن اکسید/فولیک اسید به ترتیب 39 و 9/3 درصد گزارش شده است [25 و 26]. از مقایسه نتایج بارگذاری دارو با حامل‌های پایه کربنی می‌توان نتیجه گرفت که حامل

بررسی اندازه، توزیع اندازه و ریخت حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره‌های آلومین

از آنجا که سرعت رهایش داروی بارگذاری شده به اندازه و توزیع اندازه ذره‌ها در حامل وابسته است [20 و 21]، در شکل 1، میانگین توزیع اندازه ذره‌ها و ریخت نانوذره‌های آلومین و حامل گرافن اکسید کاهش یافته / نانوذره‌های آلومین نشان داده شده است. شکل 1-الف اندازه هیدرودینامیک نانوذره‌های آلومین را حدود 187 نانومتر با توزیع اندازه ذره‌های همگن به دلیل تیز بودن پیک نشان می‌دهد، در صورتی که قطر هیدرودینامیکی حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره‌های آلومین به دلیل حضور صفحه‌های گرافن اکسید کاهش یافته (شکل 1 ج)، حدود 762 نانومتر با توزیع اندازه ذره‌های یکنواخت است. این نتایج از روش زتاسایزر به دست آمد. به علاوه، ریخت نانوذره‌های آلومین و حامل با میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز بررسی شد که همان‌طور که در شکل 1-ب مشاهده می‌شود، نانوذره‌های آلومین دارای ساختار کروی با اندازه حدود 176 نانومتر است و در شکل 1-د، حضور ورقه‌های گرافن اکسید کاهش یافته با توجه به لبه‌های نشان داده شده با پیکان زرد رنگ تأیید و نانوذره‌های آلومین با ساختار کروی و اندازه 58 نانومتر به آن متصل شده است، کمتر شدن اندازه ذره‌های آلومین احتمالاً به دلیل حضور صفحه‌های گرافنی و پراکندگی ذره‌ها در آن و در نتیجه جلوگیری از رشد نانوذره‌های آلومین در طی فرایند سنتز می‌باشد (پیکان قرمز). اندازه ذره‌ها در تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی با نرم افزار



می‌دهد، نیز رسم شد که نشان می‌دهد که سرعت رهایش پس از عبور از بخش انفجاری، به طور محسوسی کاهش یافته و سرعت آزادسازی دارو از غشای دیالیز با یک روند ثابت ادامه دارد که بیانگر رهایش دارو در بیش از 7 روز است (زیرا سرعت رهایش در شکل 4-ب به صفر نرسیده است). این نتیجه در مورد داروهای ضدسرطانی حائز اهمیت است چون در زمان طولانی، دارو به طور آهسته رهایش یافته و مانع از رشد سلول‌های سرطانی می‌شود. نتایج گزارش شده در بررسی‌های پژوهشگران دیگر نشان می‌دهد که کربوپلاتین کپسوله شده در نانوذره‌های پلی اتیلن-گلیکول در طی 40 ساعت تنها 20 درصد رهایش داشته و کربوپلاتین کپسوله شده در نانوذره‌های مغناطیسی آهن-کربن پوشش دار شده با کیتوسان در طی 25 ساعت، 0/9 درصد رهایش داشته است [29 و 30]. در نتیجه، سامانه حامل طراحی شده از لحاظ درصد رهایش کربوپلاتین مشابه حامل‌های گزارش شده است.

سازوکار رهایش دارو از حامل گرافن اکسید کاهش یافته / نانوذره های آلومین در محیط اسیدی

تجزیه و تحلیل سه الگوی سینتیکی بر اساس سه معادله 5 تا 7 در بخش تجربی انجام و نتایج آن در شکل 5 و جدول 1 نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود ضریب همبستگی در معادله کورسمایر-پیاس 0/99 است و در نتیجه، سازوکار رهایش کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش یافته/ نانوذره‌های آلومین در محیط اسیدی از نوع کورسمایر-پیاس است و از آنجا که مقدار n در این سازوکار برابر 0/62 است، پس رهایش دارو از نوع سازوکار نفوذ غیرفیکسی است [31]، یعنی در آن، زمان استراحت حامل با زمان انتشار دارو در حلال برابر است [32]. به علاوه منحنی نمودار زمان به غلظت برحسب زمان در رهایش کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش یافته / نانوذره‌های آلومین در محیط اسیدی که از معادله 9 به دست آمده‌اند در شکل 6 رسم و دیگر سنج‌های رهایش داروی کربوپلاتین از حامل در محیط اسیدی به دست آمد. برای محاسبه بیشترین مقدار غلظت داروی رهایش یافته، C_{max} ، ثابت سینتیکی رهایش، k_{rel} ، و سرعت اولیه رهایش، r_0 ، عرض از مبدأ و شیب منحنی در شکل 6 محاسبه و نتایج با توجه به معادله 9 به دست آمد. مشاهده می‌شود که بیشترین غلظت داروی کربوپلاتین رهایش یافته در طی 7 روز، 0/28 میلی‌مولار بود که در توافق با داده‌های به دست آمده از منحنی رهایش دارو است. همچنین، ثابت سینتیکی و سرعت اولیه رهایش دارو نیز گزارش شده است که پس از انجام نمونه‌هایی مشابه این سامانه، می‌تواند جهت مقایسه این سامانه با سامانه‌های حامل مشابه به‌کار رود.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، عملکرد و نوع رفتار حامل گرافن اکسید کاهش یافته/ نانوذره‌های آلومین به عنوان یک سامانه رهایش داروی ضدسرطان کربوپلاتین در محیط برون‌تنی و اسیدی برای شبیه‌سازی بافت سرطانی در تزریق موضعی دارو بررسی شد. تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی، وجود صفحه‌های گرافن اکسید کاهش یافته و نانوذره‌های آلومینی پرانکند شده در آن را تایید و زتاسایزر، توزیع مناسب اندازه ذرات و قطر هیدرودینامیکی نمونه نانوذره‌های آلومین و حامل را در حالت کلونیدی (در محلول) نشان داد. همچنین، محاسبه مقدار درصد بارگذاری و

گرافن اکسید کاهش یافته/ نانوذره‌های آلومین داروی ضدسرطان کربوپلاتین را با نسبت بالاتری بارگذاری کرده است.

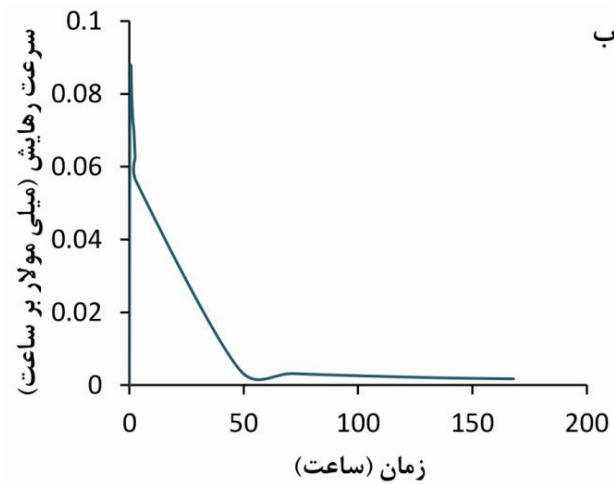
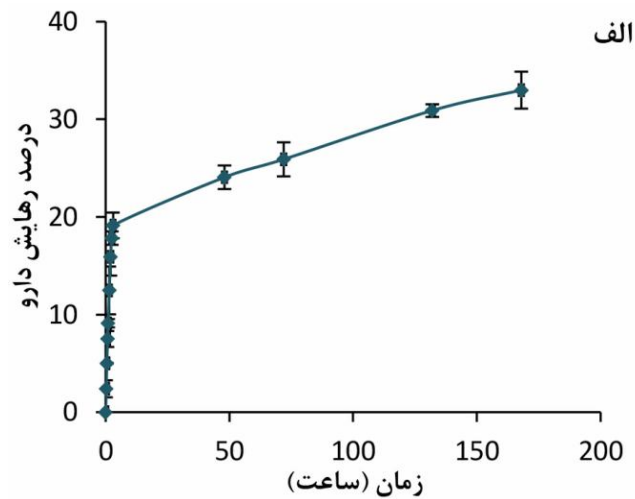
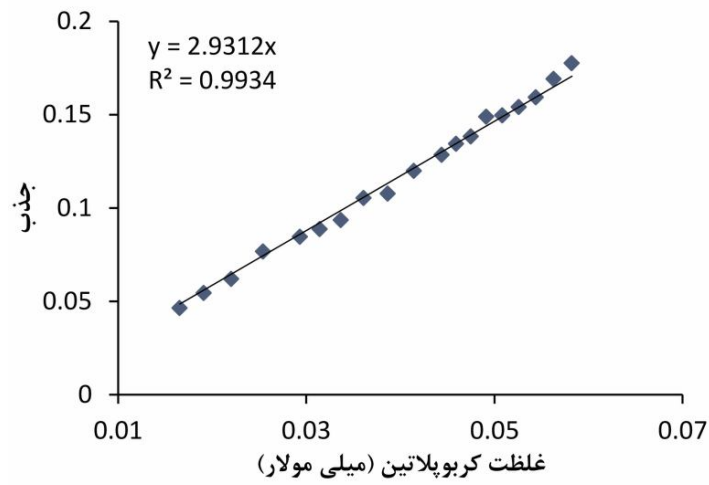
طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوری برای بررسی حضور دارو در حامل انجام شد. طیف حامل، دارو [27] و سامانه حامل با دارو در شکل 2 نشان داده شده است. نوارهای مشاهده شده در 476 cm^{-1} و 574 cm^{-1} به ترتیب مربوط به پیوند پلاتین-نیتروژن و پلاتین-اکسیژن در کربوپلاتین است. نوار ارتعاشی مشاهده شده در 1348 cm^{-1} مربوط به گروه کربوکسیلیک و نوارهای موجود در 1605 و 1645 cm^{-1} به ترتیب به ارتعاش‌های کششی گروه‌های نیترو و کربونیل نسبت داده می‌شود. نوار ارتعاشی کششی در 3269 cm^{-1} نیز مربوط به گروه N-H است. در آلومین، نوارهای ارتعاشی مشاهده شده در 1655 cm^{-1} مربوط به گروه عاملی کربونیل آمید I، 1531 cm^{-1} مربوط به پیوندهای N-H و C-N آمید II و 3300 cm^{-1} مربوط به گروه عاملی NH پیپتیدی است. در حالی که در طیف دارو و حامل، جابجایی کمی در فرکانس کششی مشاهده می‌شود که ممکن است به دلیل برهمکنش الکتروستاتیک بین دارو و آلومین باشد [28]. به علاوه، نوار کششی ظاهر شده در 3269 cm^{-1} مربوط به دارو در حضور حامل پهن‌تر و به 3264 cm^{-1} جابجا شده که ممکن است به دلیل اتصال گروه آمینی دارو به گروه کربوکسیلات گرافن اکسید کاهش یافته باشد. به طور کلی، حضور نوارهای ارتعاشی شاخص دارو در طیف حامل، حضور دارو در حامل را تایید می‌کند.

معادله استاندارد برای محاسبه غلظت کربوپلاتین

همان‌طور که در بخش 2-1 به‌طور کامل بیان شد، غلظت کربوپلاتین را می‌توان از ثبت جذب محلول حاوی کربوپلاتین با طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی و با کمک معادله‌ای که از نمودار استاندارد کربوپلاتین (شکل 3) به دست آمده است، محاسبه کرد. معادله حاصل از بهترین خط راست با ضریب همبستگی 0/99 برابر $A = 2.9312 C_t$ است. در نتیجه با داشتن جذب دارو، غلظت از طریق معادله بالا محاسبه می‌شود.

رهایش کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش یافته/ نانوذره‌های آلومین در محیط اسیدی

طبق روش گفته شده در بخش تجربی، برای رهایش داروی ضد سرطان کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش یافته/ نانوذره‌های آلومین در محیط اسیدی، غلظت نمونه‌های رهایش یافته با استفاده از معادله استاندارد در هر زمان محاسبه شد. سپس، از معادله 2، درصد رهایش دارو در هر زمان محاسبه و نمودار درصد رهایش دارو برحسب زمان رسم شد (شکل 4-الف). همان‌طور که در شکل 4-الف مشاهده می‌شود، رهایش کربوپلاتین از حامل در 3 ساعت اولیه حدود 20 درصد و انفجاری است که مربوط به رهایش داروی بارگذاری شده‌ای است که به صورت الکتروستاتیک به نانوذره‌های آلومین اتصال یافته و بخشی که در سطح نانوذره‌ها و گرافن اکسید در دسترس‌تر است و در نتیجه در ابتدا این بخش رهایش دارد. اما پس از سه ساعت، رهایش بسیار آهسته شد و در زمان 168 ساعت (7 روز)، 33 درصد رهایش دارو اتفاق افتاد. در این حالت، ابتدا دارو زمانی را صرف طی مسیر تا رسیدن به سطح حامل یا برای شکستن اتصال از نانوذره‌ها یا گرافن اکسید کاهش یافته کرده و سپس از کیسه دیالیز خارج می‌شود. شکل 4-ب که سرعت رهایش دارو (یعنی مقدار غلظت داروی رهایش یافته در هر زمان) برحسب زمان را نشان

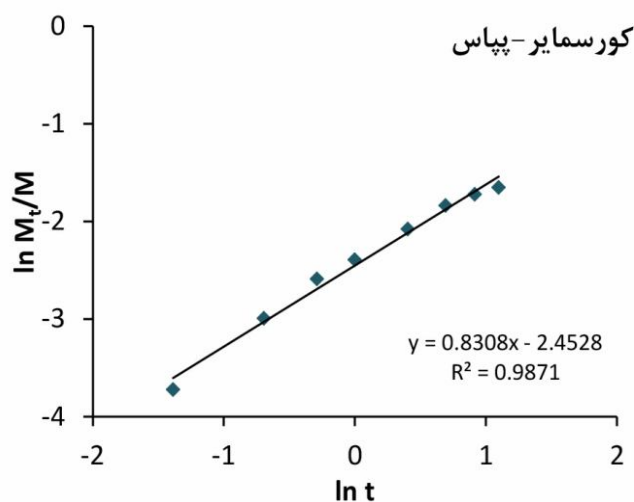
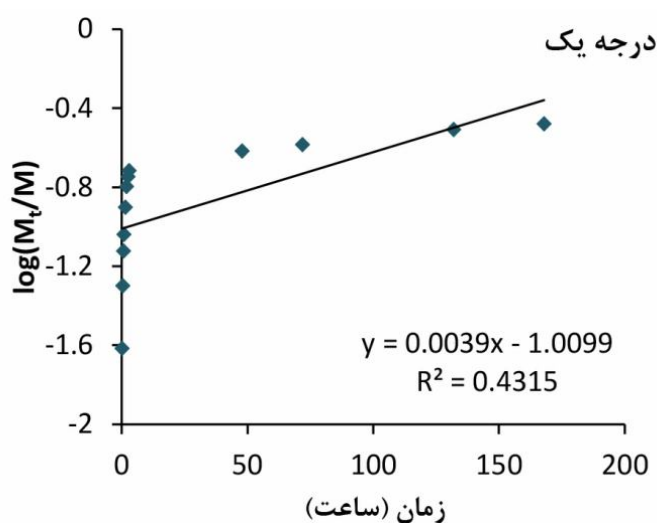


شکل 4. منحنی رفتار رهایشی کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره‌های آلومین در محیط اسیدی با pH برابر 5/5.

رهایش آهسته داروی ضدسرطان کربوپلاتین از.../جلد سوم، شماره دوم، سال 1399

جدول 1. سنجه‌های محاسبه شده در سازوکار رهایش دارو با pH برابر 5/5

کورسمایر - پیاس			درجه یک	درجه صفر	pH
R^2	n	k_K	R^2	R^2	5/5
0/99	0/83	0/86	0/43	0/69	



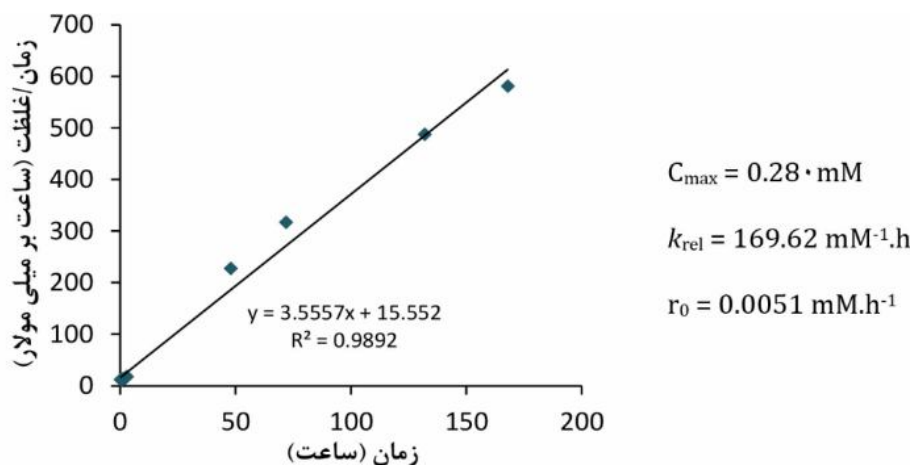
شکل 5. منحنی تعیین سازوکار رهایش دارو از حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره‌های آلبومین.

سلول های سرطانی توسعه داد و پس از به دست آمدن نتایج مطلوب در مطالعه برون تنی و درون تنی، به عنوان یک حامل مؤثر در شیمی درمانی معرفی کرد.

سپاسگزاری

محققین از حمایت پژوهشگاه مواد و انرژی در انجام پروژه با کد

کیسوله شدن، حضور داروی کربوپلاتین بر روی این حامل را اثبات کرد. همچنین، طیفسنجی زیرقرمز تبدیل فوریه نیز حضور دارو در حامل گرافن اکسید کاهش یافته / نانوذره های آلبومین را تایید کرد. به علاوه، رفتار رهایش کربوپلاتین در محیط اسیدی شبیه سازی شده بافت سرطانی، طی 7 روز نشان داد که رهایش به صورت آهسته و با سازوکار کورسمایر پیاس و نفوذ غیر فیزیکی انجام شده است. این نتایج نشان داد که می توان اثربخشی سامانه رهایش داروی کربوپلاتین مورد مطالعه را در



شکل 6. نمودار زمان به غلظت برحسب زمان در رهایش کربوپلاتین از حامل گرافن اکسید کاهش یافته/نانوذره های آلبومین در محیط اسیدی.

- 14) C. Heneweer, J.P. Holland, V. Divilov, S. Carlin, J.S. Lewis, *J. Nuc. Med.* 52 (2011) 625. 771395067 تشکر و قدردانی می کند.
- 15) M. Goudarzvand, Z. Ataie, *Alborz Univers. Med. Sci. J.* 7 (2018) 220. مراجع
- 16) N. Fattahian Kalhor, M. Saeidifar, H. Ramshini, A.A. Saboury, *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1, in press (2019).
- 17) K. Westesen, H. Bunjes, M.H.J. Koch, *J. Control. Release.* 48 (1997) 223.
- 18) S. Dash, P.N. Murthy, L. Nath, P. Chowdhury, *Acta Pol. Pharm.* 67 (2010) 217.
- 19) G.H. Son, B.-J. Lee, C.-W. Cho, *J. Pharm. Invest.* 47 (2017) 287.
- 20) J.Y. Jun, H.H. Nguyen, H.S. Chun, B.-C. Kang, S. Ko, *Food Chem.* 127 (2011) 1892.
- 21) M. Gaumet, A. Vargas, R. Gurny, F. Delie, *Europ. J. Pharm. Biopharm.* 69 (2008) 1.
- 22) H. Ayazi, O. Akhavan, M. Raoufi, R. Varshochian, N.S. Hosseini Motlagh, F. Atyabi, *Col. Surf. B* 186 (2020) 110712.
- 23) A. Pourjavadi, S. Asgari, S.H. Hosseini, *J. Drug Del. Sci. Tech.* 56 (2020) 101542.
- 24) G. Darabdhara, M.R. Das, S.P. Singh, A.K. Rengan, S. Szunerits, R. Boukherroub, *Adv. Col. Inter. Sci.* 271 (2019) 101991.
- 25) T. Zhou, X. Zhou, D. Xing, *Biomat.* 35 (2014) 4185.
- 26) X. Yang, Y. Wang, X. Huang, Y. Ma, Y. Huang, R. Yang, H. Duan, Y. Chen, *J. Mater. Chem.* 21 (2011) 3448.
- 27) https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/cre_index.cgi
- 1) J. Folkman, *D.M. Long, J. Surg. Res.* 4 (1964) 139.
- 2) B. Wang, L. Hu, T.J. Siahann, *Drug Delivery: Principles and Applications.* John Wiley & Sons, 2016.
- 3) R. Langer, N.A. Peppas, *Biomat.* 2 (1981) 201.
- 4) F. Rezaei, M. Saeidifar, M. Javaheri, P. Sangpour, *Col. Surf. B* 171 (2018) 10.
- 5) Z. Sheng, L. Song, J. Zheng, D. Hu, M. He, M. Zheng, G. Gao, P. Gong, P. Zhang, Y. Ma, L. Cai, *Biomat.* 34 (2013) 5236.
- 6) K. Muthosamy, R.G. Bai, S. Manickam, *Curr. Drug Del.* 11 (2014) 701.
- 7) C. McCallion, J. Burthem, K. Rees-Unwin, A. Golovanov, A. Pluen, *Europ. J. Pharm. Biopharm.* 104 (2016) 235.
- 8) X. Sun, Z. Liu, K. Welscher, J.T. Robinson, A. Goodwin, S. Zaric, H. Dai, *Nano Res.* 1 (2008) 203.
- 9) G.J. Quinlan, G.S. Martin, T.W. Evans, *Hepatology* 41 (2005) 1211.
- 10) G. Fanali, A. di Masi, V. Trezza, M. Marino, M. Fasano, P. Ascenzi, *Mol. Aspect. Med.* 33 (2012) 209.
- 11) F. Kratz, *J. Control. Release.* 132 (2008) 171.
- 12) A.K. Iyer, G. Khaled, J. Fang, H. Maeda, *Drug Dis. Today* 11 (2006) 812.
- 13) K. Greish, *Cancer Nanotechnology: Methods and Protocols* (2010).



- 156.
- 31) R.W. Kormeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas, *Int. J. Pharm.* 15 (1983) 25.
- 32) Y. Fu, W.J. Kao, *Expert. Opin. Drug Deliv.* 7 (2010) 429.
- 28) F. Ahmed, M.J. Ali, A.K. Kondapi, *Int. J. Biol. Macromol.* 70 (2014) 572.
- 29) M. Hassanzadeganroudsari, A. Heydarinasab, M. Soltani, P. Chen, A. Akbarzadehkhiyavi, *J. Drug Del. Sci. Tech.* 54 (2019) 101218.
- 30) X. Zhu, Y. Peng, L. Qiu, *Col. Surf. B* 157 (2017)