

طراحی سامانه دارویی آهسته رهش ۵ - فلوروپوراسیل با استفاده از نانوذرات مغناطیسی کیتوسان در ماتریس گلیسرول مونولئات

مریم عسگرزاده^۱، شاداب شهسواری^{۲*}، علی وزیری یزدی^۱، الهام منیری^۳
۱ تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه مهندسی شیمی و نفت
۲ ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، گروه مهندسی شیمی
۳ ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، گروه شیمی

چکیده

هدف پژوهش: دارورسانی آهسته رهش داروی ۵-فلوروپوراسیل به عنوان داروی ضد سرطان سینه، با استفاده از نانوذرات مغناطیسی کیتوسان که درون ماتریس گلیسرول-مونولئات پوشش داده شده، مورد بررسی قرار گرفت.

روش: در این مطالعه ابتدا نانوذرات مغناطیسی کیتوسان سنتز شده سپس دارو بر روی نانوذرات مغناطیسی بارگذاری شد. در ادامه متغیرهای pH، زمان تماس و غلظت‌های اولیه دارو به منظور بررسی فرایند جذب سطحی دارو مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت نانوذرات مغناطیسی حاوی دارو در ماتریس گلیسرول مونولئات سنتز شدند.

نتایج: نتایج نشان داد اندازه ذرات مغناطیسی سنتز شده در محدوده نانومتر است. طیف‌سنجی مادون قرمز حاکی از وجود نانوذره به همراه دارو در شبکه گلیسرول مونولئات بود. داده‌های وزن‌سنجی حرارتی نشان دهنده جذب بالای ذرات آهن بر روی کیتوسان است. همچنین تحلیل خواص مغناطیسی، نشان داد که نانوذرات کیتوسان به خوبی مغناطیسی شدند. تصاویر میکروسکوپ قطبیده، فاز لایه‌ای برای نمونه‌های با نسبت وزنی ۰/۲ و ۰/۳ و فاز مکعبی برای نمونه با نسبت وزنی ۰/۴ را نشان داد. همچنین مطالعه رهایش دارو در محیط برون‌تنی، میزان ۹۰٪ در طول ۳۰ ساعت را نشان داد.

نتیجه‌گیری: نانوذرات مغناطیسی کیتوسان در ماتریس گلیسرول مونولئات تهیه شده در شرایط بهینه با ساختار کروی و پایداری حرارتی بالا، می‌تواند به عنوان حاملی مناسب برای مصارف دارویی و به ویژه داروی ۵-فلوروپوراسیل به کار رود.

واژه‌های کلیدی

آهسته رهش
کیتوسان
گلیسرول مونولئات
نانوذرات مغناطیسی
۵-فلوروپوراسیل

*مسئول مکاتبات:

Sh.shahsavari@srbiau.ac.ir

مقدمه

سرطان سینه به نوعی سرطان گفته می‌شود که از بافت سینه آغاز می‌شود. معمولاً سرطان سینه در سلول‌های دیواره مجاری شیر و لوبولها که تأمین کننده شیر مجاری هستند، ایجاد میشود، به سرطان‌هایی که از این مجاری شروع می‌شوند، کارسینوم سینه گفته می‌شود، درحالی‌که سرطان‌های ایجاد شده از لوبولها با نام سرطان لوبولار شناخته شده‌اند. طبق محاسبات انستیتو ملی سرطان ایالات متحده آمریکا، از هر هشت زن، یک نفر در زندگی خود مبتلا به سرطان سینه می‌شود. این سرطان در صورتی که به موقع تشخیص داده شود به راحتی قابل درمان است. زنانی که مبتلا به سرطان سینه هستند، انتخاب‌های درمانی بسیاری دارند. این انتخاب‌ها شامل جراحی، پرتو درمانی، شیمی درمانی، هورمون درمانی و درمان زیستی است [۱ و ۲].

داروی ۵-فلورویوراسیل (5-Fluracil) با نام تجاری ادریوسیل، آنتی متابولیت و داروی ضد سرطان است که به علت شباهت ساختاری با پیریمیدین، در ساختار DNA و RNA قرار گرفته و منجر به جلوگیری از هماندسازی، سمیت و مرگ سلول می‌شود و در درمان سرطان سینه و کولون یا رکتوم سرطان که به سایر نقاط بدن گسترش یافته است استفاده می‌شود [۳].

نانوفناوری سرطان، جدیدترین گرایش در درمان سرطان است. این فناوری به داروساز کمک می‌کند تا محصول دارویی خود را با بالاترین ارزش درمانی و کمترین میزان اثرات جانبی، تولید کند. نانوفناوری برای تغییر مقیاس در روش‌های انتقال دارو و طراحی سامانه‌های نوین هدفمند نانوزیستی در حمل دارو ایجاد شده است. عوامل تشخیصی و درمانی می‌توانند به صورت کپسول بوده یا از طریق اتصالات کووالان، جذب ذرات نانو شوند و به علت عبور ذرات نانو از منافذ تومورها و قرار دادن فعال دارو با افزودن لیگاندها به سطح نانوذرات، افزایش تجمع نقطه‌ای دارو را به وجود آورند. این رویکردها می‌تواند به سادگی بر پیامدهای حلالیت دارو غلبه کند که عملکردهای مهمی دارند. زیرا بیش از ۴۰٪ از مواد

فعال که از طریق برنامه‌های غربالگری شناسایی شده‌اند، ترکیبات با حلالیت ضعیف در آب هستند.

در این میان نانوذرات مغناطیسی یا سوپراپارامغناطیس به عنوان گروهی از مواد نانومقیاس، انقلاب عظیمی در روش‌های تشخیص و درمان از طریق امکان انتقال هدفمند ذرات، دارو، سلول بنیادی و غیره را به بافت یا سلول هدف در دانش پزشکی ایجاد کرده‌اند. نانوذرات مغناطیس پذیر اکسید آهن دسته مهم و پرکاربردی از مواد غیر آلی مورد استفاده در دارورسانی هستند. اصلاح آسان سطح ذرات و نیز اتصال مستقیم لیگاندها به آن‌ها از مزایای مهم این ترکیبات است. به علاوه، داشتن خاصیت مغناطیس پذیری اجازه می‌دهد تا این ترکیبات در دارورسانی هدفمند با کمک میدان مغناطیسی مورد استفاده قرار گیرند و همچنین به علت تباین بهتر تصاویر، امکان تصویربرداری در سطح سلولی و مولکولی را فراهم می‌کند. نانوذرات مغناطیسی بارگذاری شده با دارو را می‌توان به وسیله ایجاد میدان مغناطیسی خارجی به نقطه خاصی از بدن هدایت کرد و بدین ترتیب دارو را به محل خاصی از بدن رساند. نانوذرات مغناطیس پذیر مگنتیت (Fe_3O_4) عمده‌ترین نانوذرات مغناطیسی مورد استفاده در دارورسانی هستند. این ذرات به طور معمول به منظور افزایش زیست‌سازگاری با پلیمرهایی مانند کیتوسان، عامل دار می‌شوند [۴]. کیتوسان مشتقی از گلوکان با واحدهای تکرار شونده کیتین است. درواقع کیتوسان، زیست پلیمر زیستی خطی است که از پوست خرچنگ یا بعضی مخمرها تهیه می‌شود و توانایی باز کردن موقتی اتصالات محکم را دارد و به وسیله آن به دارو این اجازه را می‌دهد تا از بین سدها عبور کند [۵]. نانوذرات مغناطیسی بدون پوشش به سرعت توسط سلول‌های فاگوسیتی تک‌هسته‌ای حذف می‌شوند، بنابراین پوشش دار کردن نانوذرات مغناطیسی از اهمیت زیادی برخوردار است. به طور معمول از پلیمرهای زیست تخریب پذیر برای پوشش دادن نانوذرات مغناطیسی در دارورسانی و رهایش کنترل شده مواد شیمی درمانی استفاده می‌شود، گلیسرول مونولئات (Glycerol Monooleate)

۰/۵ میلی لیتر گلوترآلدئید به عنوان عامل ایجادکننده اتصال عرضی از طریق لوله قیف جداکننده اضافه شده و رفلاکس به مدت ۱/۵ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد ادامه یافت. سپس دهانه بالن را بسته و محلول به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق هم زده شد. در انتها نانوذرات مغناطیسی سنتز شده با میدان مغناطیسی حاصل از آهن ربای مکعبی شکل ۱/۴ تسلا جداسازی شد [۷].

بارگذاری دارو بر روی نانوذرات مغناطیسی

در مرحله بعد، دارو با برقرار کردن پیوندهای میانی در نانوذرات مغناطیسی کپسوله می شود و در نتیجه نانوذرات مغناطیسی بارگذاری شده با دارو حاصل می شود. برای اتصال نانو ذرات مغناطیسی به دارو ابتدا محلول ذخیره اولیه از محلول ۵۰۰ ppm دارو تهیه شد. سپس ۱۰ میلی لیتر از آن به همراه ۰/۰۲ گرم نانوجاذب به مدت یک ساعت مخلوط شد.

سازوکار عمل به این صورت است که داروی ۵-فلوروئوراسیل با پیوندهای میانی با گلوترآلدئید به همراه گروه آمینه در زنجیره مولکولی کیتوسان کپسوله می شود و سپس اولئیک اسید به اکسید آهن متصل می شود و زنجیره کیتوسان به آن می چسبد، در نتیجه میسل های پلیمری کیتوسان، دارو را به عضو هدف می رسانند و به طور موثری سمیت دارویی نسبت به قلب و کلیه را کاهش می دهد [۸].

بهینه سازی فرمول بندی

در این مطالعه برای بررسی فرایند جذب سطحی دارو، متغیرهای pH، زمان تماس و غلظت های اولیه دارو مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که ابتدا تأثیر pH بر فرایند جذب دارو بر سطح نانوکامپوزیت در pH های ۳ تا ۱۰ بررسی شد و پس از تعیین pH بهینه، زمان رسیدن نانوجاذب به تعادل جذب و سپس تأثیر غلظت های مختلف دارو در فرایند جذب در pH بهینه مورد بررسی قرار گرفت.

GMO)) یکی از این موارد است. گلیسرول مونولئات چربی دوگانه دوست و استر اسید چربی است که به عنوان حاملی مناسب برای داروهای قطبی و همچنین غیرقطبی استفاده می شود [۶].

مواد و روش ها

مواد

در این پژوهش از گلوترآلدئید (۲۵% محلول در آب) ساخت شرکت مرک و داروی ضد سرطان ۵-فلوروئوراسیل و کیتوسان با وزن مولکولی ۱۰۰ کیلودالتون، گلیسرول مونولئات ساخت شرکت دنیسکو کشور دانمارک، نمک آهن کلرید شش آبه ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)، نمک آهن کلرید چهارآبه ($\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)، محلول آمونیاک ۲۵ درصد و اسید استیک، اسید بوریک، اسید فسفریک، هیدروکسید سدیم، همگی از شرکت مرک و کیسه دیالیز با سایز ۱۲ کیلودالتون از شرکت سیگما استفاده شد. همچنین برای تمام محلول سازی ها از آب دوبار تقطیر استفاده شد.

سنتز نانوذرات مغناطیسی کیتوسان

در این مرحله نانوذرات کیتوسان مغناطیسی با استفاده از کیتوسان و نمک های آهن ۴ و ۶ آبه سنتز شد. به این صورت که ابتدا ۰/۱۵ گرم کیتوسان با وزن مولکولی ۱۰۰ کیلودالتون در ۳۰ میلی لیتر اسیداستیک ۱ درصد با هم زدن مداوم با استفاده از هم زن مغناطیسی حل شد. سپس ۱/۳۴ گرم آهن کلرید شش آبه و ۳/۴ گرم آهن کلرید چهارآبه به ۵۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام فراصوت در دمای اتاق قرار داده شد. در ادامه محلول کیتوسان به تعلیقی های نمک آهن افزوده شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد در حمام فراصوت قرار داده شد. تعلیقی حاصل به بالن ته گرد دودهانه منتقل شده و مقدار ۱۰ میلی لیتر آمونیاک ۳۲ درصد را داخل قیف جداکننده ریخته و به صورت قطره قطره در شرایط حضور چگالنده با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد تحت هم زدن سریع و مداوم اضافه شد تا pH محلول به ۱۰ برسد. پس از اتمام آمونیاک،

سنتز نانوذرات مغناطیسی حاوی دارو در ماتریس گلیسرول مونولئات

در مرحله آخر، نانوذرات مغناطیسی حاوی دارو با برقرار کردن پیوندهای عرضی درون شبکه ماتریسی گلیسرول مونولئات قرار می‌گیرند. برای وارد کردن نانوذره مغناطیسی بهینه حاوی دارو به شبکه ماتریسی گلیسرول مونولئات، یک گرم GMO با ۳ درصد وزنی از نانوذره بهینه با نسبت‌های ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ به نمونه اضافه شد سپس به وسیله هم‌زن به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد و برای مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق برای رسیدن به تعادل نگه‌داری شد. در نهایت نوع فاز تشکیل شده توسط میکروسکوپ نوری قطبیده بررسی شد [۹ و ۱۰].

بررسی خصوصیات نانو ذره بهینه

به منظور سنجش شکل سطحی نانوذرات بهینه از میکروسکوپ الکترونی (FE-SEM) روبشی مدل Sigma 500 ساخت کشور آلمان استفاده شد. برای این کار، نمونه روی استاپ که نوعی پایه از جنس آلومینوم است قرار داده شد و جهت رسانا شدن برای گرفتن تصاویر، تحت شرایط خلا با طلا پوشش‌دهی شد. در نتیجه تصویر نانو ذرات به وسیله ردیابی الکترون‌های ثانویه ساطع شده از نمونه با ولتاژ ۱۵ کیلووات گزارش شد [۱۱].

به منظور بررسی ساختار نانو ذرات از طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR) مدل Nexus 870 ساخت کشور آمریکا استفاده شد بدین ترتیب که قرص مورد استفاده در دستگاه به وسیله مخلوط کردن نانوذره حاوی دارو با برومایدپتاسیم در فشار ۵۰۰ اتمسفر آماده و اسکن شد و در ادامه طیف به دست آمده با طیف پلیمر و اسانس به تنهایی مقایسه شد.

برای پیش‌بینی پایداری حرارتی نانوذرات به دست آمده از دستگاه تحلیل وزن‌سنجی حرارتی (TGA) مدل Toledo ساخت کشور سوئیس استفاده شد. بر این اساس نمونه در گستره دمایی ۲۵ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه تحت اتمسفر نیتروژن قرار

گرفت و تغییرات فیزیکی ماده به صورت تابعی از دما رسم شد.

به منظور تجزیه و تحلیل ساختار و خصوصیات شیمیایی نمونه از طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDAX (EDS)) استفاده شد. در این تحلیل امکان شناسایی عناصر از بازه کربن تا اورانیوم میسر می‌شود. خواص مغناطیسی نانوذره سنتز شده با استفاده از دستگاه مغناطیس‌سنج (VSM) اندازه‌گیری شد و حلقه پسماند نانوذره که به نوعی بیان تصویری مغناطش ماده است به دست آمد.

جهت تشخیص نوع فاز تشکیل شده در شبکه ماتریس گلیسرول مونولئات از میکروسکوپ نوری قطبیده مدل CETT ساخت کشور چین استفاده شد.

مطالعه رهایش دارو

برای اندازه‌گیری میزان رهایش دارو از نانوذرات مغناطیسی، در محیط شبیه‌سازی شده معده و روده مراحل زیر به ترتیب انجام شد [۱۲]:

- مرحله جذب: برای این منظور ابتدا ۰/۲ گرم از نانوجاذب مغناطیسی به ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰۰ ppm دارو اضافه و به مدت ۱ ساعت مخلوط می‌شود. سپس جاذب با استفاده از سانتریفیوژ و صافی سرسرنجی جداسازی شده و میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-Vis) بررسی شد.

- مرحله واجذب در معده: جاذب جدا شده در مرحله قبل را به اضافه ۲ میلی‌لیتر بافر معده (pH=۱/۲) داخل کیسه دیالیز با سایز ۱۲ کیلودالتون ریخته و داخل ۵۰ میلی‌لیتر بافر قرار داده و در داخل بن‌ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از نمونه با استفاده از دستگاه طیف نورسنج تحلیل شد.

- مرحله واجذب در روده: کیسه دیالیز را از ظرف محتوی بافر معده به ظرف محتوی ۵۰ میلی‌لیتر بافر روده (pH=۷/۴) منتقل کرده و به مدت ۳۰ ساعت در زمان‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۳۰ ساعت از بشر یک

مغناطیسی بارگذاری شده با دارو، همراه با تصاویر طیف کیتوسان و داروی ۵-فلوروپوراسیل در شکل ۲ به تصویر کشیده شده‌اند.

در طیف کیتوسان مغناطیسی نشان داده شده در شکل ۲-۳، علاوه بر قله‌های مربوط به کیتوسان قله‌ای قوی در محدوده 553 Cm^{-1} مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده وجود پیوند O-Fe است. طیف کیتوسان نیز دارای قله‌ای قوی و پهن در 1346 Cm^{-1} است که به ارتعاشات کششی O-H و نسبت داده می‌شود. دو نوار شاخص واقع در 1608 Cm^{-1} و 1660 به ترتیب، متعلق به ارتعاش خمشی N-H در NH_2 و ارتعاش کششی C=O در راستای شیوه تغییر شکل N-H در NHCO آمید نوع ۱ است (شکل ۲-۱) [۱۴].

قله‌های موجود در طیف مربوط به دارو شامل 1244 و 1345 مربوط به ارتعاشات F-C و N-C موجود در ساختار ۵-فلوروپوراسیل است (شکل ۲-۲). در نتیجه بارگذاری دارو بر سطح نانوذره، قله‌هایی در محدوده 1037 و 1651 که به ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی C=N و C-N ظاهر شده است (۱۵). پس از وارد شدن نانوذره به همراه دارو به شبکه گلیسرول-مونولئات (شکل ۲-۴)، قله‌ای در 1734 که مربوط به گروه استری C=O موجود در گلیسرول مونولئات است، مشاهده می‌شود (۱۶).

میلی لیتر برداشته و یک میلی لیتر از محلول تازه بافر فسفات جایگزین شد. سپس نمونه با استفاده از دستگاه طیف نورسنج به منظور بررسی میزان اسانس آزاد شده تحلیل شد.

نتایج و بحث

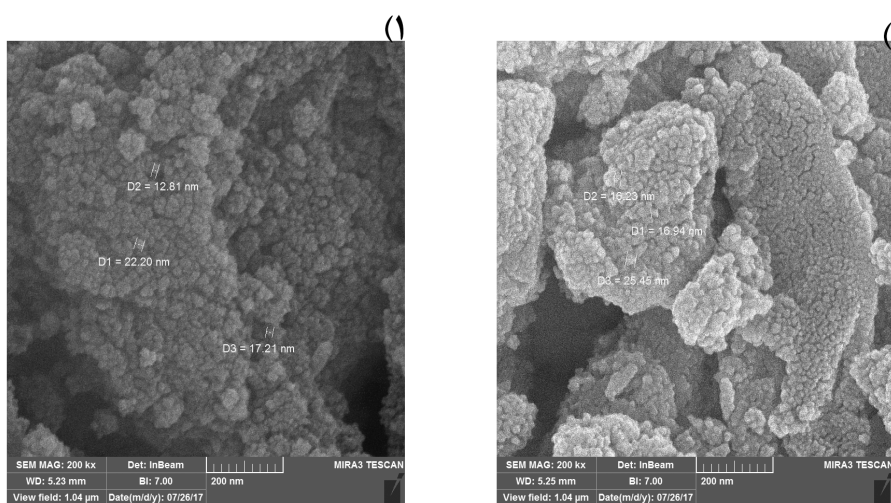
میکروسکوپ الکترونی روبشی

تجزیه و تحلیل تصویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی برای فرمول بندی بهینه نشان می‌دهد که نانوذرات دارای ساختار کروی بوده و در ابعاد نانو هستند (شکل ۱).

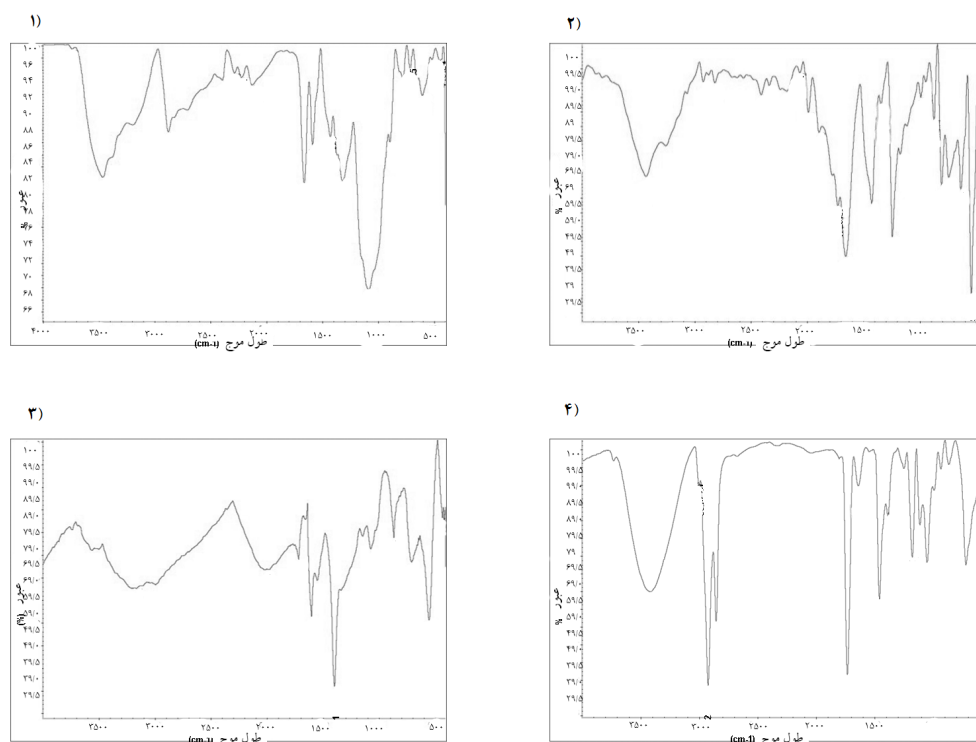
همچنین با توجه به تصاویر، اندازه نانوذرات مغناطیسی در محدوده بین 12 و 22 نانومتر و اندازه نانوذرات مغناطیسی حاوی دارو در محدوده 16 و 25 نانومتر است. در تحقیق مشابهی، تصاویر میکروسکوپ الکترونی کیتوسان مغناطیسی که با روش هم‌رسوبی سنتز شده بودند حاکی از اندازه ذرات در مقیاس نانو قبل و پس از پوشش دوم بود (شکل ۱) [۱۳].

طیف سنجی مادون قرمز

طیف مادون قرمز نانوذره مغناطیسی و همچنین نانوذره



شکل ۱ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی؛ (۱) نانوذرات مغناطیسی و (۲) نانوذرات مغناطیسی حاوی دارو در ماتریس



شکل ۲ طیف سنجی مادون قرمز؛ (۱) کیتوسان، (۲) ۵-فلوروپوراسیل، (۳) نانوذره مغناطیسی کیتوسان با دارو و (۴) نانوذره مغناطیسی درون شبکه گلیسرول مونولئات بارگذاری شده با دارو

مغناطیسی همراه با دارو نشان می‌دهد که در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد فقط ۲۵٪ از وزن خود را از دست می‌دهد. همچنین کاهش جرم نهایی نانوذره مغناطیسی در ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد، فقط در حدود ۲۸٪ است و این در صورتی است که کیتوسان خالص در این دما، نزدیک به ۷۰٪ از وزن خود را از دست می‌دهد. این امر نشان‌دهنده جذب بالای ذرات آهن بر روی کیتوسان است (شکل ۳).

طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس

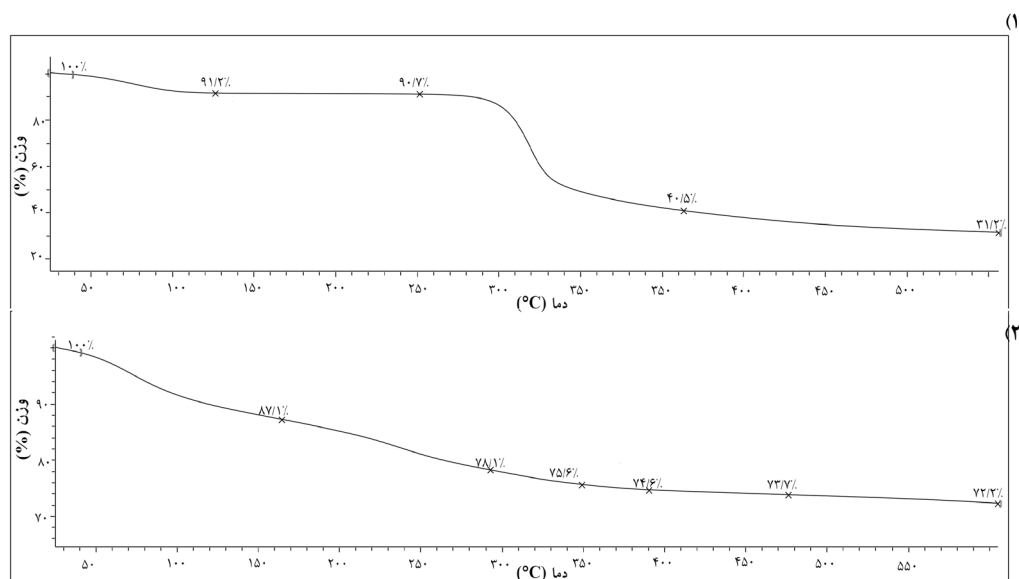
با توجه به طیف مربوط به کیتوسان مغناطیسی (شکل ۴-۱)، وجود تمامی عناصر موجود در آن شامل ۲۶/۰۴٪ وزنی کربن، ۳/۲۶٪ وزنی نیتروژن، ۳۵/۹۱٪ وزنی اکسیژن، ۱/۳۴٪ وزنی کلر و ۲۳/۴۵٪ وزنی آهن در آن تأیید می‌شود. همچنین در تحلیل مربوط به طیف کیتوسان مغناطیسی همراه با دارو (شکل ۴-۲)، علاوه بر وجود عناصر مربوط

تحلیل وزن‌سنجی حرارتی

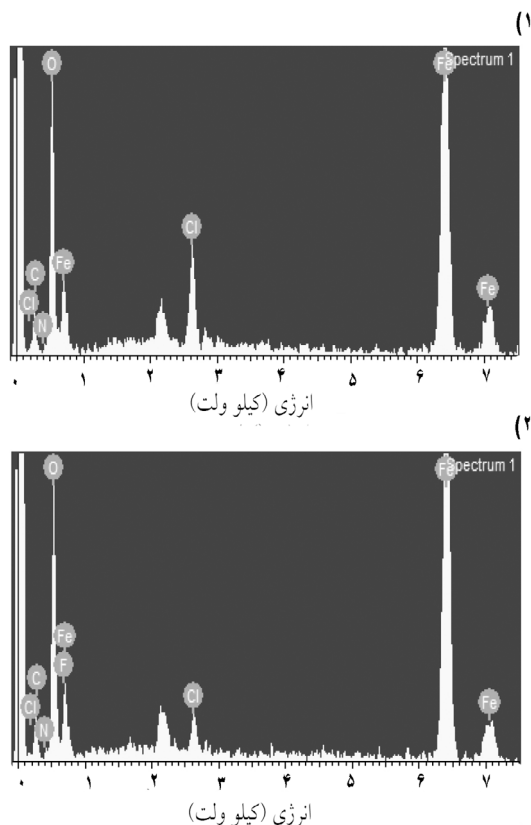
شکل ۳ منحنی وزن‌سنجی حرارتی کیتوسان و نانوذره کیتوسان مغناطیسی همراه با دارو را بر اساس کاهش وزن در مقابل حرارت نشان می‌دهد. با استفاده از این تحلیل می‌توان رابطه بین کاهش وزن نمونه‌ها را در مقابل افزایش دما ارزیابی کرد.

مطابق شکل ۱-۳ مشاهده می‌شود که کیتوسان در برابر حرارت ناپایدار است و با افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد شروع به از دست دادن وزن خود تا حدود ۱۰٪ به دلیل تبخیر آب ذخیره شده می‌کند. سپس تا دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد حدود ۶۰٪ از وزن خود را بر اثر تجزیه شدن کیتوسان از دست می‌دهد و در مرحله آخر فقط ۳۰٪ از وزن اولیه آن در دمای بیشتر از ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به دلیل تجزیه شدن گروه‌های عاملی باقی می‌ماند [۱۷].

داده‌های وزن‌سنجی حرارتی درمورد نانوذره کیتوسان



شکل ۳ تحلیل وزن سنجی حرارتی؛ (۱) کیتوسان و (۲) نانوذره کیتوسان مغناطیسی همراه با دارو



شکل ۴ طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس؛ (۱) نانوذرات مغناطیسی و (۲) نانوذرات مغناطیسی درون گلیسرول مونولئات

به کیتوسان مغناطیسی، فلئور با درصد وزنی ۹۷/۳٪ به وضوح مشاهده می شود که نشانگر جذب خوب دارو بر روی نانوذره مورد نظر است (شکل ۴).

تحلیل خواص مغناطیسی

شکل ۵، تحلیل خواص مغناطیسی نانوذره بهینه را نشان می دهد. با توجه به این تصویر مشاهده می شود که نانوذرات کیتوسان با ایجاد شدت جریان الکتریکی، مغناطیسی شده و تحت میدان مغناطیسی از خود واکنش نشان می دهد. در این صورت می توان نتیجه گرفت که نانوذرات کیتوسان به خوبی مغناطیسی شدند (شکل ۵).

میکروسکوپ نوری قطبیده

به منظور تشخیص نوع فاز تشکیل شده در شبکه ماتریس گلیسرول مونولئات از میکروسکوپ نوری قطبیده استفاده شد.

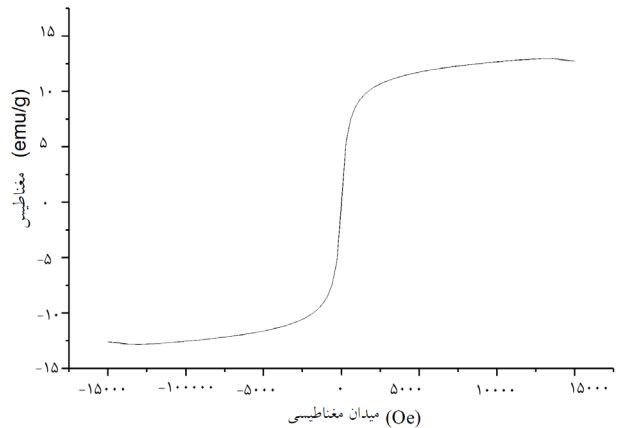
فاز مکعبی به وسیله پس زمینه تیره مشخص شد زیرا بر طبق خاصیت ایزوتروپیک خود، نور قطبیده را از خود عبور می داد و پس زمینه تیره دیده می شد و

و شفاف دارد و بر طبق خاصیت ایزوتروپیک خود، نور قطبیده را از خود عبور می‌دهد، در نتیجه تصویر با پس‌زمینه سیاه نمایش داده می‌شود. همچنین این ساختار شبکه از لحاظ ترمودینامیکی پایدار است. گرانیروی بالای فاز مکعبی باعث فراهم آوردن سامانه آهسته رهش برای آزادسازی داروها می‌شود (شکل ۶) [۱۹].

مطالعه رهایش دارو

رهایش داروی ۵-فلوروپوراسیل از نانوذرات مغناطیسی بهینه شده درون ماتریس گلیسرول مونولئات در محیط شبیه‌سازی شده برون تنی مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که ابتدا نمونه به مدت ۱ ساعت در محلول اسیدکلریدریک (محلول معده) و سپس به مدت ۳۰ ساعت در محلول بافر فسفات (محیط روده) قرار گرفت و داده‌های آزادسازی دارو در مقابل زمان رسم شد (شکل ۷).

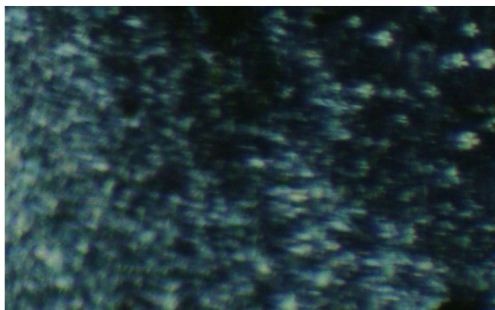
همان‌گونه که در شکل ۷ نشان داده شده است حدود ۵۰٪ از دارو با شیب بسیار تند در یک ساعت ابتدایی در محیط شبیه‌سازی معده آزاد می‌شود پس از انتقال نانوذرات حاوی دارو به محیط بافر فسفات آزادسازی دارو تا حدود ۱۰ ساعت با شیبی ملایم رهایش پیدا می‌کند. محل عوض شدن بافر از محیط معده به روده در شکل ۷ نشان داده شده است (BufferChanging).



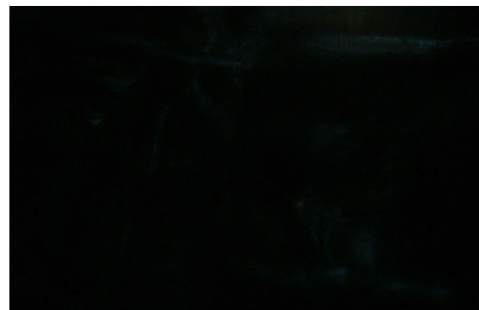
شکل ۵ تحلیل خواص مغناطیسی نانوذرات مغناطیسی

فازهای لایه‌ای ساختار موزائیکی مانند داشت [۱۸]. شکل ۶ ساختار فازهای شبکه با نسبت‌های مختلف وزنی (۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴) آب-گلیسرول مونولئات را در زیر میکروسکوپ قطبیده نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۶ مشخص شد که در نمونه‌های با نسبت وزنی ۰/۲ و ۰/۳ فاز لایه‌ای در تصویر دارای ساختار موزائیکی مانند شکل گرفته است (شکل ۶-۱). همچنین در نمونه با نسبت وزنی ۰/۴ فاز مکعبی شکل گرفته است (شکل ۶-۲). فاز مکعبی بسیار گرانیرو بوده و حالت نیمه‌جامد

(۱)



(۲)



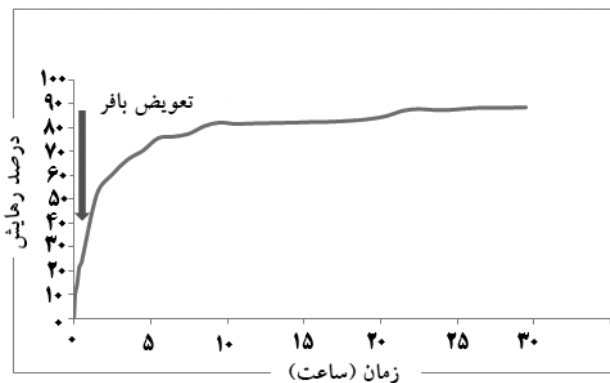
شکل ۶ تصاویر میکروسکوپ نوری قطبیده در ساختارهای فاز بلوری مایع؛ (۱) فاز لایه‌ای (نسبت وزنی ۰/۲ و ۰/۳) و (۲) فاز مکعبی (نسبت وزنی ۰/۴)

مقدارهای ضرایب معادله و مقدار ضریب همبستگی (R^2) برای منحنی‌های خطی محاسبه شد. هرچه R^2 به یک نزدیک‌تر باشد، انطباق آزادسازی شکل دارویی مورد نظر بیشتر می‌شود.

بنابراین داده‌های تجربی با استفاده از ۴ مدل سینتیکی همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است تحلیل شد. با توجه به مقدار R^2 که برای هر مدل در جدول (۱) ارائه شده است، پروفیل رهایش دارو از نانوذرات نشان می‌دهد که بهترین مدل برای متناسب کردن داده‌های رهایش مدل‌های سینتیکی درجه اول هستند.

بهینه‌سازی فرمول بندی

ابتدا میزان جذب دارو توسط ۰/۰۲ گرم نانوکامپوزیت برای pHهای مختلف مورد آزمایش قرار گرفت که باتوجه به نتایج، pH=۵ به عنوان pH بهینه انتخاب شد. سپس تأثیر زمان تماس نانوجاذب کیتوسان مغناطیسی بر ظرفیت جذب دارو در pH=۵ و در زمان‌های مختلف ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه بررسی شد و مشخص شد که در ابتدا به دلیل وجود مکان‌های فعال خالی بسیار در سطح کیتوسان مغناطیسی سرعت فرایند جذب سطحی دارو بسیار سریع است ولی با گذشت زمان از تعداد مکان‌های فعال کاسته شده و سرعت جذب سطحی کم می‌شود و در نهایت فرایند جذب سطحی پس از ۳۰ دقیقه به تعادل می‌رسد.



شکل ۷ روند آزادسازی دارو از نانوذرات مغناطیسی بهینه در گلیسرول مونولئات در محیط معده و روده

در نهایت آزادسازی در ساعت ۳۰ به بیشترین مقدار رهایش، ۹۰٪ خواهد رسید. با توجه به اینکه یکی از اهداف ما در این پژوهش رهایش آهسته دارو و در نتیجه ماندگاری زیاد نانوذرات در محیط بدن برای مصارف پزشکی است، این شکل آزادسازی توانسته است نتایج مطلوبی را ارائه دهد.

بررسی مدل سازی رهایش دارو

برای درک سازوکار و سینتیک رهایش دارو، داده‌های رهایش دارو در محیط برون تنی با مدل‌های سینتیکی مختلف تحلیل شده و با استفاده از تحلیل رگرسیون،

جدول ۱ مدل‌های سینتیکی رهایش دارو

	مدل درجه صفر	مدل درجه اول	مدل پیاس	مدل هیگوچی
ضریب همبستگی R^2	۰/۷۹۴۰	۰/۹۸۲۵	۰/۹۸۴۲	۰/۳۳۳
ضرایب معادله		$y_0=78/899$ $a=-55/637$ $b=0/0969$	$a=29/17$ $b=0/269$	

نتیجه گیری

دارورسانی آهسته رهش به کمک نانوحامل‌ها به سبب تغییر در پارامترهای جذب، توزیع و متابولیسم دارو، افزایش مدت زمان حضور دارو در جریان خون، کاهش سمیت، افزایش نیمه عمر دارو، کاهش میزان مصرف دارو و هدف‌یابی دقیق‌تر به عنوان یکی از راهکارهای خوش‌آئیه در درمان سرطان مطرح هستند که با تکیه بر دلایل ذکر شده کارایی نانوذرات مغناطیسی در این زمینه چشمگیرتر خواهد بود.

در این تحقیق نانوذرات مغناطیسی کیتوسان سنتز شد که با استفاده از نتایج تحلیل خواص مغناطیسی تأیید شد، سپس داروی ۵-فلوروئوراسیل بر روی آن بارگذاری شده و به منظور دارورسانی آهسته رهش، نانوذرات درون شبکه ماتریسی گلیسرول مونولئات قرار گرفتند. مطابق طیف‌های مربوط به پراش انرژی پرتو ایکس علاوه بر وجود تمامی عناصر، وجود میزان بالای ۹۷٪ فلئور نشانگر جذب خوب دارو بر روی نانوذره مورد نظر است. همچنین بر اساس تصاویر میکروسکوپ نوری قطبیده مشخص شد نسبت وزنی بهینه برای گلیسرول مونولئات-آب، ۰/۴ است که شبکه‌ای با نوع

فاز مکعبی به وجود می‌آورد. فاز مکعبی از لحاظ ترمودینامیکی پایدار بوده و به دلیل گرانیروی بالا باعث فراهم آوردن سامانه آهسته رهش برای آزادسازی داروها می‌شود. باقری و همکاران نیز در پژوهش خود به این نسبت وزنی دست یافتند [۲۰].

طبق مشاهدات طیف‌های مادون قرمز و ارتعاشات موجود در آن، برهم‌کنش خوبی بین نانوذرات مگنتیت و گروه‌های عاملی کیتوسان و همچنین گروه‌های دارو و گروه استری گلیسرول مونولئات رخ داده است. براساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی، شکل‌گیری نانوذرات کروی شکل با سطح صاف است و اندازه متوسط نانوذرات مغناطیسی قبل و بعد از بارگذاری دارو زیر ۳۰ نانومتر گزارش شدند. همچنین مطالعه دمایی، پایداری نانوذرات را در دمای بالای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد مشخص می‌کند. نتایج به دست آمده از رهایش دارو از نانوذرات مغناطیسی درون شبکه گلیسرول مونولئات به میزان ۹۰٪ در طول ۳۰ ساعت را نشان داد که حاکی از برهم‌کنش ایده‌آل بین دارو، نانوذرات و شبکه ماتریسی است [۲۱] و آزادسازی دارو از مدل سینتیکی درجه اول پیروی می‌کند.

مراجع

- 1- Wu M. and Huang Sh., Magnetic Nanoparticles in Cancer Diagnosis, Drug Delivery and Treatment, Molecular and Clinical Oncology, 7, 738–746, 2017.
- 2- Abou-Jawde R., Choueiri T., Alemany C. and Mekhail T., An Overview of Targeted Treatments in Cancer, Clinical Therapeutics, Clin Ther., 25, 2121-2137, 2003.
- 3- Longley D., Harkin P., and Johnston P., 5-fluorouracil: Mechanisms of Action and Clinical Strategies, Nature Reviews Cancer, 3, 330, 2003.
- 4- Dilnawaz F., Singh A., Mohanty C., Sahoo K., Dual Drug Loaded Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Targeted Cancer Therapy, Biomaterials, 31, 3694–3706, 2010.
- 5- Felt F., Mayer JM., Plazonet B., Buri P., Gurny R., Topical Use of Chitosan in Ophthalmology: Tolerance Assessment and Evaluation of Precorneal Retention, International Journal of Pharmaceutics, 180, 185-93, 1999.
- 6- Ericsson B., Eriksson P., Lofroth J., Engström S., Cubic Phases as Delivery Systems for Peptide Drugs, ACS Symposium Series, 469, 251-265, 1991.
- 7- Lübke A., Alexiou C., and Bergemann C., Clinical Applications of Magnetic Drug Targeting, Journal of Surgical Research, 95, 200-206, 2001.
- 8- Jun Jie W., Wu Zeng Z., Zhong Xiao R., Xie T., Lin Zhou G., Zhan X., and Ling Wang Sh., Recent Advances of Chitosan Nanoparticles as Drug Carriers, International Journal of Nanomedicine, 6, 765, 2011.
- 9- Kumar K., Shah M., Ketkar A., Mahadik, and Paradkar A., Effect of Drug Solubility and Different Excipients on Floating Behaviour and Release from Glyceryl Monooleate Matrices, International journal of pharmaceutics, 272, 151-160, 2004.
- 10- Bagheri G., Dorkoosh F., Vasheghani-Farahani E., Ardjmand M., Formulation and Optimization of Controlled Release of Olanzapine by Glycerol Monooleate, Medical Journal of Tabriz University, 36, 51-59, 2015.
- 11- Jafari M., Assadpoor E., Bhandari B., He Y., Nano-particle Encapsulation of Fish Oil by Spray Drying, Journal of Food Research International, 41, 172–183, 2008.
- 12- Wulandari O., Preparation and Characterization of Chitosan-coated Fe₃O₄ Nanoparticles Using Ex-Situ Co-Precipitation Method and Tripolyphosphate/Sulphate as Dual Crosslinkers, Conf. Ser.: Material Science Engineering, 2018.
- 13- Zarzycki R., Modrzejewska Z., Nawrotek K., Drug Release from Hydrogel Matrices, Chemical Engineering, 17, 117-36, 2010.
- 14- Jianjun Z., Fu M., Zhang M., Xu L., and Gao Y., Synthesis of Oxidized Glycerol Monooleate-chitosan Polymer and its Hydrogel Formation for Sustained Release of Trimetazidine Hydrochloride, International Journal of Pharmaceutics, 465, 32-41, 2014.
- 15- Patel DM., Harshvadan Jani R., Patel CN., Design and Evaluation of Colon Targeted Modified Pulsincap Delivery of 5-fluorouracil According to Circadian Rhythm, International Journal of Pharmaceutical Investigation 1, 172-81, 2011.
- 16- Glavcheva-Laleva Z., Varadinova V., Kerekov St., Pavlov D., Glavchev Iv., Application of Waste Glycerol from Biodiesel Production for Obtaining of Modifiers for Reduced Friction of Different Motor Oils, Bulgarian Chemical Communications, 47, 118-123, 2015.
- 17- Meyer D., Shin G., Kong M., Dewhirst and Chilkoti A., Drug Targeting Using Thermally Responsive Polymers and Local Hyperthermia, Journal of Controlled Re-

lease, 74, 213-224, 2001.

18- Ericsson B., Eriksson P., Lofroth J., Engstrom S., Cubic Phases as Delivery Systems for Peptide Drugs, ACS Symposium Series, 5, 251-265, 1991.

19- Trickler W., Nagvekar A., and Dash A., The in Vitro Sub-cellular Localization and in Vivo Efficacy of Novel Chitosan/GMO Nanostructures Containing Paclitaxel, Pharmaceutical Research, 26, 1963-1973, 2009.

20- Bagheri G., Dorkoosh F., Vasheghani-Farahani E.,

Ardjmand M., Design of Controlled Release of Olanzapine by Using Glycerol Monooleate in Sol-gel Systems, New Cellular and Molecular Biotechnology Journal, 5, 81-88, 2015.

21- Loebinger MR., Kyrtatos PG., Turmaine M., Price AN., Pankhurst Q., Lythgoe MF., Janes SM., Magnetic Resonance Imaging of Mesenchymal Stem cells Homing to Pulmonary Metastases Using Biocompatible Magnetic Nanoparticles, Cancer Research, 69, 8862-7, 2009.