

تهیه سامانه‌های نانو چندسازه‌ای بر پایه پلیمرهای طبیعی و خاک رس به منظور رهایش کنترل شده داروی ضدسرطان سیس پلاتین

فهیمة فرشی ازهر**

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

علی اولاد، ملیحه جعفرپور

گروه شیمی کاربردی، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

چکیده: هدف این مطالعه، توسعه سامانه رهایش کنترل شده برای داروی ضدسرطان سیس پلاتین (Cisplatin) به منظور بهبود زمان نیمه عمر و اثربخشی آن می‌باشد. سیس پلاتین در بین لایه‌های سیلیکاتی مونت موریلونیت سدیم (MMT) به روش بین لایه‌ای کردن محلول قرار گرفته و توسط پلیمرهای طبیعی کیتوزان (CS)، نشاسته (St) و آلژینات (Alg) احاطه می‌شود. به منظور بررسی اثر MMT نانو چندسازه‌های CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin با مقادیر متفاوت MMT تهیه شدند. نانو چندسازه‌های تهیه شده با تجزیه و تحلیل‌های اسپکتروسکوپی فروسرخ تبدیل فوریه (FT-IR)، پراش پرتو ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) شناسایی و تعیین ویژگی شدند. با آزمایش‌های برون تنی، اثر مقدار MMT و همچنین اثر pH محیط رهایش بر روی پروفیل رهایشی دارو از سامانه‌های نانو چندسازه‌ای ارزیابی شد. مطابق نتیجه‌ها، سامانه نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin با مقدار ۵۰٪ وزنی MMT و سامانه نانو چندسازه‌ای St-Alg/MMT/Cisplatin با مقدار ۳۰٪ وزنی MMT در محیط رهایش با $pH = 7.4$ به طور مؤثری میزان رهایش را در حد دلخواه ثابت نگه می‌دارد، به طوری که زمان لازم برای رهایش ۵۰٪ دارو ($T_{50\%}$) برای این نانو چندسازه‌ها به ترتیب برابر با ۴ روز و ۱۴ ساعت می‌باشد. همچنین رهایش داروی سیس پلاتین در محیط به نسبت بازی بیش تر از محیط اسیدی بوده و امکان مصرف خوراکی به دلیل محافظت در محیط معده وجود خواهد داشت.

واژگان کلیدی: نانو چندسازه، پلیمر طبیعی، مونت موریلونیت، رهایش کنترل شده، سیس پلاتین.

KEYWORDS: Nanocomposite, Natural polymer, Montmorillonite, Controlled release, Cisplatin.

مقدمه

داروهای نوین به دلیل صرف هزینه بیش تر و زمان طولانی تر برای معرفی و ورود به بازار، کم تر مورد توجه قرار گرفته است، ولی بهبود و گسترش سامانه‌های دارورسانی داروهای موجود از سوی

برای درمان و غلبه بر بیماری‌ها و همچنین بهبود روند معالجه با روش دارو درمانی دو روش وجود دارد: کشف و توسعه داروهای نوین، و تهیه سامانه‌های نوین با استفاده از داروهای موجود. طراحی

*Email: fahimeh.farshi@gmail.com

* عهده‌دار مکاتبات

داروی کپسوله شده نمی تواند در معده آزاد شود. به تدریج با عبور دارو از سامانه گوارشی که pH محیط افزایش می یابد، درجه آماس آلزینات افزایش می یابد که رهایش دارو را آسان می کند [۶]. کیتوزان پلی ساکاریدی کاتیونی شامل d- گلوکوزآمین و N-استیل گلوکوزآمین می باشد که از داستیلاسیون کیتین در محیط قلیایی به دست می آید. کیتوزان به دلیل ویژگی های ویژه اش مانند زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری، سمی نبودن، پاسخ های ایمنولوژیک، ویژگی های ضد میکروبی، طبیعت کاتیونی و دانسیته باری زیاد در محلول در سامانه های رهایش دارو کاربرد دارد [۷]. همچنین اثبات شده که کیتوزان ویژگی های چسبندگی مخاطی خوبی دارد که رهایش طولانی مدت مناسب و فراهم زیستی بالایی با طولانی کردن زمان ماندن حامل دارو در سایت هدف فراهم می کند [۸].

از بین ترکیب های شیمی درمانی موجود در درمان بیماری های سرطان، سیس دی آمینو دی کلروپلاتینیوم یا سیس پلاتین (Cisplatin)، یکی از پرمصرف ترین داروهای آنتی نئوپلاستیک با مکانیسم آلکیله کننده DNA می باشد که در درمان سرطان های گوناگون مانند بیضه، تخمدان، مثانه، سر و گردن و ریه کاربرد دارد [۹]. سیس پلاتین یک کمپلکس معدنی آسیب رسان به DNA است و اتصال سیس پلاتین به DNA ژنومی در هسته سلول، رخداد اصلی است که پاسخ گوی ویژگی های ضد سرطانی سیس پلاتین است. بنابراین آسیب ایجاد شده بر اثر اتصال سیس پلاتین به DNA ژنومی ممکن است مکانیسم های رونویسی و همانندسازی DNA را مهار کند. پیرو آن، این تغییرها در پردازش DNA باعث فرایند مسمومیت سلولی می شود که سلول های سرطانی را به سمت مرگ سلولی هدایت می کند. با این وجود متابولیسم این دارو بسیار سریع می باشد، به طوری که زمان نیمه عمر زیستی آن حدود نیم تا یک ساعت می باشد و در محیط بدن حدود ۱۵ تا ۳۵ درصد آن پس از ۲۴ ساعت توسط ادرار از بدن خارج می شود [۱۰]. از سایر محدودیت های سیس پلاتین هیدرولیز سریع آن به واسطه واکنش های غیر آنزیمی، عبور مشکل از سد خونی- مغزی، و باقی ماندن پلاتین به علت هیدرولیز دارو تا ۴ ماه در بافت ها می باشد. درحالی که هیدرولیز آرام، منجر به سمیت کم تر، نیمه عمر پلاسمای طولانی تر و دفع مؤثر داروی دست نخورده از کلیه ها (سمیت کلیوی کم تر) می شود، ولی کاهش در ویژگی های ضدتومور را به دنبال خواهد داشت مگر این که غلظت دارو در سایت عمل به مدت طولانی تری بتواند حفظ شود. همچنین به دلیل نیمه عمر کوتاه سیس پلاتین، برای دستیابی به یک غلظت مؤثر دارو در خون، بیش تر افراد مقدار دارو و یا

سازمان های نظارتی، زمان کمتری لازم دارد. منظور از سامانه های دارورسانی کنترل شده و هدفمند، فرمول بندی یا طراحی ابزاری است که دارو را با سرعت کنترل شده و در زمان مشخص به محل معینی از بدن برساند. در سال های اخیر، کشف و توسعه سامانه های نوین رهایش دارو بر پایه زیست مواد توجه زیادی را به ویژه در درمان بیماری های سرطان به خود جلب کرده است. اهمیت به کارگیری سامانه های دارورسانی کنترل شده در مورد داروهای ضدسرطان در این است که امکان ایجاد غلظت پلاسمایی ثابت و یکنواخت دارو برای مدت زمان مشخص در خون مهیا می شود. در این صورت با کاهش مقدار دارو در بدن عوارض جانبی آن کم تر و بازده درمانی بیش تر می شود و راحتی بیمار را در پی خواهد داشت. همچنین مهم ترین برتری های به کارگیری زیست مواد به عنوان حاملان دارو، زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری آن ها در بدن می باشد [۱]. از پرمصرف ترین زیست مواد در سامانه های رهایش داروهای ضدسرطان می توان پلیمرهای طبیعی زیست تخریب پذیر مانند آلزینات، کیتوزان، نشاسته و مشتق های سلولز را نام برد [۲،۳].

در بین پلیمرهای زیست تخریب پذیر، نشاسته به دلیل در دسترس پذیری و بهای مناسب آن مورد توجه قرار گرفته است. نشاسته شکل اصلی کربوهیدرات ذخیره در گیاهان و فراورده پایانی فتوسنتز است و به طور معمول از ذرت، گندم، سیب زمینی و برنج استخراج می شود. از نظر ساختار، نشاسته ترکیبی از واحدهای خطی آمیلوز (۲۰-۳۰٪) و واحدهای شاخه دار آمیلوپکتین (۷۰-۸۰٪) می باشد. هر دو این واحدها از واحدهای تکراری کربوهیدرات منفرد D-گلوکز تشکیل یافته اند [۴]. پلیمرهای زیست تخریب پذیر بر پایه نشاسته به شکل میکروکره یا هیدروژل مناسب برای سامانه های دارورسانی هستند. ویژگی های یگانه مانند آب دوستی، نفوذپذیری، زیست سازگاری و تشابه با سامانه های زیستی، نشاسته را مناسب برای کاربردهای زیست پزشکی می کند [۵]. آلزینات پلی ساکاریدی طبیعی و با طبیعت آنیونی مشتق شده از جلبک های قهوه ای، شامل d- مانورونیک اسید (M) و l- گلورونیک اسید (G) می باشد. ویژگی های خاص آلزینات شامل آب دوستی، زیست تخریب پذیری، چسبندگی مخاطی، سمیت و قیمت پایین، آن را مناسب به عنوان حامل دارو می کند. همچنین توانایی آلزینات در تشکیل ژل در حضور کاتیون های دو ظرفیتی، امکان اتصال داروها، پروتئین ها و آنزیم های گوناگونی را فراهم می کند. رهایش دارو از آلزینات پدیده ای وابسته به pH می باشد که منجر به رهایش دارو در محل ویژه می شود. آلزینات در pH های پایین (محیط معده) جمع شدگی دارد و بنابراین

به‌تازگی به‌کار بردن نانو چندسازه‌های پلیمر/ سیلیکات‌های لایه‌ای برای سامانه‌های رهایش دارو توجه زیادی را جلب کرده است. این مواد هیبریدی برتری‌های ترکیب ویژگی‌های هر دو دسته از ترکیب‌ها را از جمله آماس و جذب آب، ویژگی‌های مکانیکی، رفتار گرمایی و چسبندگی زیستی را باهم دارند. مطالعه‌های بسیاری بر روی به‌کارگیری انواع خاک‌های رس مانند کائولینیت، پالیوگسیت، تالک، مونت موریلونیت و اسمکتیت برای ایجاد کارایی‌های گوناگونی مانند به‌تأخیرانداختن و یا هدفمند نمودن رهایش دارو، بهبود انحلال دارو، افزایش پایداری دارو و بهبود الگوهای رهایش دارو به دلیل غیرسمی بودن، منطقه سطحی ویژه بالا و ظرفیت جذب بالای آن‌ها در منابع وجود دارد [۱۵-۲۱]. در میان سیلیکات‌های لایه‌ای، مونت موریلونیت (MMT) توجه زیادی را به دلیل قابلیت آن در رهایش کنترل شده دارو، ویژگی‌های چسبندگی‌اش به فرمولاسیون‌های دارویی، توانایی عبور از سد معده‌ای-روده‌ای و فراهم زیستی خوراکی آن به خود جلب کرده است. از نظر سمیت سلولی، MMT تنها مهار در تکثیر سلولی در غلظت‌های بالاتر از $100 \mu\text{g/mL}$ را نشان می‌دهد، ولی از نظر آسیب‌گشایی، سمیت سمی آن تنها در دوز بالای $1000 \mu\text{g/mL}$ پس از ۷۲-۴۲ ساعت دیده می‌شود. افزون بر این، MMT هیچ گونه اکسیژن‌فعالی (ROS^(۱)) در غلظت‌های زیستی زیر $500 \mu\text{g/mL}$ در مدت ۲۴ ساعت ایجاد نمی‌کند [۲۲]. بر اساس نتیجه‌های گزارش شده، سمیت سلولی MMT بیش‌تر تحت تأثیر اندازه ذره‌های پوشاننده سطح سلول‌های کشت شده نسبت به عامل نفوذ به غشای پلازما می‌باشد. همچنین MMT در طی ۱۴ روز پس از تجویز خوراکی هیچ‌گونه سمیت درون بدن مانند کاهش وزن بدن و رفتارها و نشانه‌های غیرطبیعی در موش‌ها ایجاد نکرد. مقدارهای LD₅₀ از MMT بیش از 1000 mg/kg تخمین زده شد، که نشان می‌دهد MMT در دوز عملی برای کاربردهای زیستی (کم‌تر از 100 mg/kg) سمی نیست. با توجه به مطالعه فارماکوکینتیک، MMT رفتارهای سینتیکی دلخواه از نظر جذب سریع و از بین رفتن در شرایط in-vivo نشان داد. نکته دیگری که باید در این‌جا مورد تأکید قرار گیرد این است که اگر ذره‌های MMT در بدن قرار گیرند در هیچ اندام ویژه‌ای جمع نمی‌شوند. بنابراین، نتیجه‌گیری شد که MMT می‌تواند به عنوان یک ماده معدنی ایمن در سطح کاربرد دارویی در نظر گرفته شود. همچنین مشخص شد که چندسازه بین MMT و زیست پلیمرهایی مانند کیتوزان زیست‌سازگاری خوبی را در دامنه $5-500 \mu\text{g/mL}$

دفعه‌های مصرف آن را افزایش می‌دهند که این موجب افزایش اثرهای جانبی ناخواسته دارو مانند نارسایی کلیوی، اختلال شنوایی، اختلال در سلول‌های خونی، اختلال‌های گوارشی و اختلال‌های نورولوژیک می‌شود [۱۱].

تاکنون تنها مصرف درون وریدی داروی سیس پلاتین برای مصرف‌های کلینیکی در بازار موجود بوده است. این روش مصرف محدودیت‌هایی از جمله درد و نیاز به فرمولاسیون‌هایی که بااستی استریل باشند دارد. همچنین نیاز به افراد متخصص برای تزریق، بیماران را از خود درمانی باز می‌دارد. اضطراب، بزرگ شدن و یا تحلیل رفتن چربی زیرجلدی در محل تزریق و آلرژی‌های موضعی از دیگر محدودیت‌های روش مصرف دارو به‌صورت تزریقی می‌باشد که منجر به نپذیرفتن این روش از سوی بیماران می‌شود. بنابراین چنین محدودیت‌هایی در روش مصرف به همراه اثرهای سمی، در کنار نیمه عمر پلاسمایی پایین دارو نیاز به یک سامانه رهایش انتخابی را با یک روند پایدار برای داروی سیس پلاتین ایجاد می‌کند. در میان روش‌های گوناگون برای انتقال هدفمند دارو، روش مصرف خوراکی یکی از بهترین روش‌های شیمی درمانی می‌باشد. در این روش غلظت مناسبی از دارو در جریان بدن باقی می‌ماند که تماس طولانی مدتی را با سلول‌های سرطانی خواهد داشت که منجر به افزایش مؤثر بودن دارو و کاهش اثرهای جانبی آن می‌شود [۱۲]. از سوی دیگر شیمی درمانی خوراکی یک قدم مؤثر برای تحقق رویای بیماران با عنوان شیمی درمانی در خانه می‌باشد که کیفیت زندگی آن‌ها و امید آن‌ها به‌درمان را به‌ویژه در مرحله‌های پایانی بیماری که بیمار نیز بسیار ضعیف برای پذیرش سایر روش‌های درمانی می‌باشد، افزایش می‌دهد [۱۳]. تاکنون هیچ مقدار مشخصی از سیس پلاتین برای مصرف خوراکی تعیین نشده است. همچنین شکل‌های خوراکی این دارو به دلیل تخریب ماده مؤثر دارو در قسمت‌های فوقانی سامانه گوارشی نامؤثر خواهد بود. بنابراین فناوری‌های فارماکولوژیکی بر روی روش‌های رهایش مؤثر دارو در روده از روش مجاری معدی روده‌ای در حال توسعه می‌باشد. با این وجود در مقایسه با داروهای پروتئینی، رهایش کنترل شده داروهای ضدسرطان با جرم مولکولی پایین با روش کپسوله شدن در پلی ساکاریدهایی مانند آلژینات و کیتوزان هنوز دارای محدودیت‌هایی است. به دلیل محتوای زیاد آب موجود در ماتریس‌های رهایش بر پایه پلی ساکاریدها، رهایش داروهای با جرم مولکولی پایین بیش‌تر به طور کنترل شده انجام نمی‌گیرد و سرعت رهایش بسیار بالا می‌باشد [۱۴].

(۱) Reactive oxygen species

با روش پلیمریزاسیون تعلیقی رادیکال آزاد ساختند. رهایش انفجاری سیس پلاتین (۴۰٪) در روز اول دیده شد که از سینتیک رهایش درجه صفر پیروی می‌کند و نزدیک به ۲۰٪ رهایش در ۵ روز بعدی دیده شد. چنگ^۱ و همکاران [۳۲] هیدروژل زیست سازگار N-ایزوپروپیل آکریل امید پیوند یافته با کربوکسی متیل کیتوزان را به عنوان حامل داروی سیس پلاتین تهیه کردند. ترشح برون تنی سیس پلاتین از این هیدروژل نشان داد که رهایش سیس پلاتین کنترل شده و در مدت زمان طولانی پایدار بود. پنگ^۲ و همکاران [۳۳]، در یک کار پژوهشی موفق به ساخت نانو ژل حساس به pH و گرما شدند. سیس پلاتین در این نانو ژل به واسطه گروه کربوکسیل نانو ژل، بر روی ژل بارگذاری شد. بررسی‌های pH نشان داد که رهایش سیس پلاتین در محیط اسیدی سریع‌تر انجام گرفته و آهسته‌ترین رهایش در pH=۷/۳۸ بود. پیوند بین سیس پلاتین و نانو ژل توسط کلر شکسته می‌شود، همچنین رهایش سیس پلاتین در دمای ۳۷°C آهسته‌تر از دمای ۲۵°C رخ داد. همچنین رهایش درون تنی این نانو ژل در نوعی موش نشان داد که این نانو ژل‌ها به طور کلی در سیتوپلاسم سلول‌های سرطانی متمرکز شده هست. برخی از عارضه‌های جانبی داروی سیس پلاتین مانند سمیت کلیوی، قلبی، سرکوب مغز استخوان و عارضه‌های جانبی دیگر آن توسط نانو ژل‌های بارگذاری شده با سیس پلاتین کاهش یافت. لیخیتکار^۳ و همکاران [۳۴]، رهایش کنترل شده سیس پلاتین از نانوذره‌های ابرمغناطیسی نشاسته را بررسی کردند. در کار آن‌ها رهایش دارو در pH فیزیولوژیک بدن (۷/۴) با روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر عامل‌هایی مانند ترکیب شیمیایی نانوذره‌ها، دما، pH محیط رهایش و قدرت میدان مغناطیسی اعمالی بر روی پروفیل رهایش سیس پلاتین بررسی شد. در کار دیگری رهایش این دارو از یک سامانه ژلی هیبریدی بر پایه کیتوزان-الژینات بررسی شده و مدت زمان ۲ ساعت برای رهایش کامل به دست آمد [۳۵]. راجان^۴ و همکاران به بررسی رهایش سیس پلاتین از کیتوزان عامل دار شده با کربوکسیلیک اسید پرداختند. نتیجه‌ها نشان داد که رهایش کامل در pH=۲ در مدت زمان ۳۰۰ دقیقه و در pH=۶/۸ برابر ۱۵۰ دقیقه به دست می‌آید [۳۶].

اگر چه سیس پلاتین با حامل‌هایی مانند کیتوزان و نشاسته بررسی شده است، ولی به کارگیری آن‌ها به همراه MMT به عنوان حامل دارورسانی با هدف رهایش کنترل شده و بهبود زمان نیمه عمر تاکنون بررسی نشده و در این کار برای نخستین بار نانو چندسازه‌هایی

نشان می‌دهد و می‌تواند به طور مؤثری تکثیر سلولی را تحریک کند [۲۳]. همچنین غیرسمی بودن MMT در مطالعه‌های خون شناسی، زیست شیمی و بافت شناسی در مدل‌های موش به اثبات رسیده است [۲۴، ۲۵]. در نتیجه MMT به خاک رس پزشکی موسوم است که توانایی جذب سموم غذایی، سموم باکتریایی موجود در دستگاه گوارش، یون‌های هیدروژن در اسیدوز و سموم متابولیکی مانند متابولیت‌های استرادیول را دارد که منجر به تعدادی از نشانه‌های شایع مانند تهوع، استفراغ و اسهال می‌شود که از عوارض جانبی داروهای ضد سرطان می‌باشند [۲۶، ۲۷]. ساختار بلوری MMT شامل دو لایه می‌باشد که هر لایه از یک صفحه آلومینا اکتاهدرال (O) که بین دو لایه سیلیکاتی تتراهدرال (T) قرار گرفته تشکیل شده است. به دلیل وجود نقص‌های شبکه بلوری و جانشینی‌های ایزومورفی یونی در ساختار T-O-T، MMT دارای بار منفی خالص می‌باشد. به دلیل فاصله بین لایه‌های ۱/۲ - ۰/۹ نانومتری در MMT و ویژگی مبادله کاتیونی آن، MMT توانایی تشکیل نانو چندسازه‌هایی را با ترکیب‌های آلی گوناگون دارد. این برتری‌های ذاتی MMT را مناسب برای به کارگیری در سامانه‌های رهایش دارو به عنوان یک ماده مؤثر و یا به عنوان حامل می‌کند [۲۸].

با در نظر گرفتن برتری‌های یاد شده سامانه‌های پلیمری گوناگونی برای رهایش داروی سیس پلاتین به کار گرفته شده است که مقایسه این سامانه‌ها از نظر میزان و زمان رهایش بررسی شده است. اون^۱ و همکاران [۲۹]، نوعی هیدروژل آهسته رهش برای داروی سیس پلاتین بر پایه پلی وینیل الکل (PVA) و ژلاتین تهیه کردند و گزارش نمودند که هیدروژل با بیش‌ترین محتوای PVA دارای تورم و رهایش آهسته تری نسبت به محتوای کم PVA می‌باشد. در کار پژوهشی دیگری که توسط مورا^۲ و همکاران [۳۰]، انجام شد نوعی هیدروژل حساس به دما بر پایه کیتوزان دارای داروی سیس پلاتین تهیه شد. در این کار دو نوع هیدروژل با دو عامل ایجاد پیوند عرضی سنتز شد، عامل ایجاد پیوند عرضی یونی، گلیسرول - نمک دی سدیم فسفات و عامل یونی / کوالانسی با استفاده از جنیپین که هر دوی هیدروژل‌ها قادر به تشکیل در محل، در شرایط فیزیولوژیک بودند. مقدار داروی رهایش یافته کلی برای هیدروژل یونی ۲۰٪ و برای هیدروژل یونی / کوالانسی ۷۰-۶۰٪ بود. یان^۳ و همکاران [۳۱]، میکروذره‌های پلی (آکرلیک اسید-کو-متیل متاکریلات) دارای داروی سیس پلاتین را

(۱) Oun

(۳) Yan

(۵) Peng

(۷) Rajan

(۲) Moura

(۴) Cheng

(۶) Likhitar

UV-Vis spectrophotometer 1700, Shimadzu) UV-Vis تعیین شد. همچنین مقادیرهای λ_{max} برای جذب سیس پلاتین در محلول‌های بافر با pH های گوناگون (۱/۲، ۷/۴ و ۱۰) با این دستگاه تعیین شدند. به منظور دیسپرس نمودن ذره‌های خاک رس و باز شدن هر چه بیش‌تر صفحه‌های خاک رس مونت موریلونیت از دستگاه فراصوت دارای میله سنجش Bandelin مدل D-12207, UW 3200 ساخت کشور آلمان استفاده شد.

تهیه نانو چندسازه کیتوزان / مونت موریلونیت دارای داروی سیس پلاتین (CS/MMT/Cisplatin)

برای تهیه این سامانه‌های نانو چندسازه‌ای، نخست سوسپانسیون خاک رس مونت موریلونیت در آب آماده شد. به این ترتیب که مقادیرهای مشخصی از خاک رس (درصد خاک رس در این کار پژوهشی در فرمولاسیون‌های سنتز شده، نسبت به کیتوزان با درصدهای وزنی-وزنی ۰٪، ۳۰٪، ۵۰٪ و ۷۰٪ انتخاب شد) در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۴۸ ساعت در دمای 40°C به هم زده شد و سپس سوسپانسیون به دست آمده به منظور تیمار بیش‌تر به مدت ۵ دقیقه با توان ۵۰w تحت تأثیر فراصوت قرار گرفت. سپس مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از تری پلی فسفات (به عنوان عامل اتصال عرضی) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با هم‌زدن در دمای اتاق حل شد. سوسپانسیون خاک رس، در قیف دکانتور ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و قطره قطره به محلول کیتوزان (۴۵۰ میلی‌گرم در ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول ۱٪ v/v استیک اسید گلاسیال در آب مقطر) در دمای $40-50^{\circ}\text{C}$ افزوده شد و ترکیب نهایی به مدت ۸ ساعت در این دما هم‌زده شد. ۱۰ میلی‌گرم (۱۰۰۰ ppm) از داروی سیس پلاتین به محلول عامل اتصال عرضی افزوده شد و در دمای اتاق به مدت ۱ ساعت هم‌زده شد. سرانجام از مخلوط دارو و تری پلی فسفات مقدار ۸۰ میلی‌لیتر برداشته و درون سرنگ ۱۰ میلی‌لیتری ریخته و با سرنگی با سر سوزن به قطر ۰/۴۵ میلی‌متر قطره قطره بر روی ۲۰۰ میلی‌لیتر مخلوط CS /MMT افزوده شد و در دمای آزمایشگاه هم‌زده شد. مخلوط پایانی به مدت یک ساعت دیگر نیز هم زده شد و سرانجام سانتریفیوژ شد و چندسازه نهایی به مدت ۲۴ ساعت در دمای 65°C منجمد شد. ذره‌های منجمد شده با فناوری انجماد-خشک‌سازی به مدت ۴۸ ساعت در دمای 8°C خشک شدند و برای آزمایش‌های رهائش برون‌تنی استفاده شدند.

بر پایه این پلیمرها و MMT سنتز شده‌اند. بنابراین نخست بین لایه‌های شدن سیس پلاتین در صفحه‌های MMT با هدف رهائش کند دارو انجام گرفت. سپس به منظور کپسوله کردن توسط پلیمرهای طبیعی، نانو چندسازه‌های CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin تهیه و شناسایی شدند. مطالعه‌های رهائش برون‌تنی دارو برای بررسی اثر مقدار MMT با مقادیرهای متفاوت از این خاک رس در سامانه‌ها و همچنین برای بررسی اثر pH با بکاربردن محلول‌های بافر گوناگون با pH های ۱/۲، ۷/۴ و ۱۰ انجام گرفت. همچنین مدل‌های سینتیکی Higuchi و Korsmeyer-Peppas برای بیان مکانیسم رهائش دارو از این سامانه‌ها به کار رفت.

بخش تجربی

مواد و تجهیزات

کیتوزان (جرم مولکولی متوسط، درجه داستیلاسیون ۸۵٪، Sigma-Aldrich)، سدیم آلژینات (Sigma-Aldrich)، سدیم هیدروکسید (Fluka)، پتاسیم دی هیدروژن فسفات و تری پلی فسفات (شرکت تیتراکم)، کلسیم کلرید، دی سدیم هیدروژن فسفات، پتاسیم کلرید، سدیم کربنات، سدیم هیدروژن کربنات، هیدروکلریک اسید، استیک اسید گلاسیال (Merck)، سیس پلاتین (Sigma Aldrich)، سدیم مونت موریلونیت KSF (منطقه سطحی ویژه $20-40\text{ m}^2/\text{g}$ ، ظرفیت تبادل کاتیون $30\text{ meq}/100\text{ g}$ ، Sigma Aldrich)، کیسه دیالیز (Sigma Aldrich , cut off = ۱۲۴۰۰)، همه مواد شیمیایی مورد استفاده از درجه خلوص بالایی برخوردار بوده و بدون نیاز به خالص‌سازی اولیه، مصرف شدند.

برای به دست آوردن طیف‌های FT-IR نمونه‌ها از اسپکتروفتومتر FT-IR (Bruker, Tensor 27 spectrophotometer) استفاده شد. نمونه‌ها به طور کامل پودر شده و با پودر سدیم برمید مخلوط و به صورت قرص درآمدند. قرص‌های به دست آمده در بازه‌ی عدد موجی $4000-400\text{ cm}^{-1}$ تجزیه و تحلیل شدند. الگوهای پراش پرتو ایکس نمونه‌ها با دستگاه diffractometer Siemens D500 با $\text{Cu } \alpha\text{ radiation}$ ($\lambda = 1.5418\text{ \AA}$) در دمای اتاق، با ولتاژ ۳۵ kV با سرعت اسکن $1^{\circ}/\text{min}$ در بازه $2-70^{\circ}$ تعیین شدند. برای بررسی ریخت‌شناسی از میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM VP (LEO 1430 Germany) در ولتاژ ۱۵ kv استفاده شد. نمونه‌ها پیش از تجزیه و تحلیل با دستگاه Polaron SC7620 روکش Au-Pd داده شدند. مقدار داروی رهائش شده با دستگاه اسپکتروفتومتر

میزان مؤثر کپسوله شدن دارو

میزان مؤثر کپسوله شدن دارو (Encapsulation Efficiency) EE در سامانه‌های تهیه شده با اندازه گیری جذب محلول رویی با استفاده از معادله (۱) تعیین می‌شود [۳۷]:

$$EE = \frac{W_t - W_f}{W_t} \quad (1)$$

که در این معادله، W_t مقدار کل داروی افزوده شده به فرمولاسیون و W_f مقدار داروی آزاد شده به محلول رویی (پس از جداکردن ذره‌های دارای دارو) می‌باشند.

مطالعه‌های برون تنی رهائش داروی سیس پلاتین از سامانه‌های نانو چندسازه‌ای

برای بررسی پروفیل رهائشی دارو از سامانه‌های تهیه شده، ۵۰۰ میلی‌گرم از ذره‌های نانو چندسازه در کیسه دیالیزی که پیش‌تر به مدت ۲۴ ساعت در بافر قرار داده شده بود، ریخته شد. این کیسه دیالیز در بشری دارای ۵۰ میلی‌لیتر محلول بافر در درون شیکر انکوباتور در دمای 37°C با دور 70rpm قرار گرفت. در فاصله زمان‌های معین ۵ میلی‌لیتر از محلول بافر خارج کیسه دیالیز برداشته شد و با ۵ میلی‌لیتر محلول بافر تازه جایگزین شد تا حجم سامانه بدون تغییر بماند. غلظت دارو در نمونه‌ها با فناوری UV-Vis و با استفاده از نمودارهای برسنجی مربوطه تعیین شدند.

در آزمایش‌های رهائش دارو، پس از نمونه گیری و تعیین غلظت از روی منحنی برسنجی، غلظت‌های به دست آمده بایستی تصحیح شوند. زیرا پس از هر بار نمونه گیری از محلول بافر درون بشر (که دارو به آن وارد شده است) برای جبران حجم کاهش یافته، به مقدار حجم نمونه برداشته شده، محلول بافر تازه به درون بشر افزوده می‌شود. پیرو این عمل داروی رها شده (درون بشر) رقیق می‌شود. برای لحاظ نمودن اثر این رقیق شدن، غلظت‌های به دست آمده از نمودار برسنجی باید با معادله (۲) تصحیح شوند و درصد رهائش به دست آید [۳۸]:

$$\text{Cumulative release \%} = \frac{V_E \sum_{i=1}^{n-1} C_i + V_0 C_n}{m_0} \times 100 \quad (2)$$

که در این معادله، V_E حجم نمونه برداشته شده (۵ میلی‌لیتر)، V_0 حجم اولیه واسطه رهائش (۵۰ میلی‌لیتر)، C_i و C_n غلظت دارو در زمان‌های i و n (mg/L) و m_0 جرم نمونه دارای دارو می‌باشد.

تهیه نانو چندسازه نشاسته-آلژینات/مونت موریلونیت دارای داروی سیس پلاتین (St-Alg/MMT/Cisplatin)

برای تهیه این سامانه‌های نانو چندسازه‌ای نیز نخست سوسپانسیون خاک رس مونت موریلونیت در آب آماده شد. به این ترتیب که مقدارهای مشخصی از خاک رس (درصد خاک رس در این کار پژوهشی در فرمولاسیون‌های سنتز شده، نسبت به نشاسته با درصد‌های وزنی-وزنی ۰٪، ۳۰٪، ۵۰٪ و ۷۰٪ انتخاب شد) در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای 40°C هم زده شد و سپس سوسپانسیون به دست آمده به منظور تیمار بیش‌تر به مدت ۵ دقیقه با توان 50W تحت فراصوت قرار گرفت. سپس ۱۰ میلی‌گرم (1000ppm) از داروی سیس پلاتین به سوسپانسیون خاک رس افزوده شد و ۸ ساعت هم‌زده شد. پس از این مرحله، مخلوط بالا به محلول نشاسته (۱ گرم در ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر) افزوده شد و پس از کمی هم‌زدن محلول آلژینات (۱ گرم در ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر) نیز به مخلوط افزوده شد و به مدت ۶ ساعت هم‌زده شد. سرانجام مخلوط نهایی St-Alg/MMT/Cisplatin توسط سرنگی با سر سوزن به قطر 0.45mm (فاصله بین سرسوزن و سطح محلول ۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد) به محلول کلسیم کلرید (۵٪ (w/v) عامل اتصال عرضی) قطره قطره افزوده شد و دانه‌های St-Alg/MMT/Cisplatin به صورت آنی تشکیل شدند. دانه‌ها به مدت نیم ساعت، برای شبکه‌ای شدن کامل، درون محلول کلسیم کلرید باقی ماندند. دانه‌ها پس از صاف شدن، به مدت ۲۴ ساعت در دمای 65°C منجمد شدند. دانه‌های منجمد شده با فناوری انجماد-خشک‌سازی به مدت ۴۸ ساعت در دمای -80°C خشک شدند و برای آزمایش‌های رهائش برون تنی استفاده شدند.

اسپکتروسکوپی UV-Vis

برای تعیین مقدار داروی آزاد شده از سامانه‌های تهیه شده و نیز برای تعیین λ_{max} مربوط به پیک‌های جذبی سیس پلاتین در محلول‌های بافر با pH گوناگون (۱/۲، ۷/۴ و ۱۰) فناوری اسپکتروسکوپی UV-Vis به کار گرفته شد. مقدارهای λ_{max} برای جذب سیس پلاتین در محلول‌های بافر با pH گوناگون (۱/۲، ۷/۴ و ۱۰) به ترتیب برابر با ۳۰۲، ۳۰۱ و ۳۰۰ می‌باشند. بنابراین این مقدارهای λ_{max} برای تعیین غلظت سیس پلاتین از سامانه‌های تهیه شده به کار گرفته شد.

سینتیک رهایش دارو

رهایش کنترل شده داروها از سامانه‌های پلیمری کنترل شده نفوذی، با نفوذ مولکول‌های دارو در بین زنجیرهای پلیمر صورت می‌گیرد. استفاده از مدل‌های ریاضی برای تشریح سینتیک رهایش دارو از این سامانه‌ها مفید خواهد بود. هرچند که این مدل‌ها بر اساس معادله‌های نفوذی بیان می‌شوند، ولی به‌طور معمول در داروسازی به مدل‌های سینتیکی معروف هستند، زیرا رفتار وابسته به زمان رهایش دارو را نشان می‌دهند. مدل‌های سینتیکی گوناگونی بر اساس مکانیسم کنترل فیزیکی رهایش دارو وجود دارند. در این پروژه، برای تعیین مکانیسم رهایش دارو در زمان ۸ ساعت اول رهایش، نتیجه‌های به دست آمده از مطالعه‌های رهایش با دو مدل Higuchi و Korsmeyer-Peppas [۳۹،۴۰] بررسی شدند. مدل Higuchi (معادله (۳))، رهایش دارو را متناسب با ریشه دوم زمان و بر اساس نفوذ قانون فیک توضیح می‌دهد:

$$M = K_H t^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

M مقدار داروی حل شده در زمان t ، K_H ثابت تفکیک Higuchi و t زمان رهایش می‌باشد.

مدل Korsmeyer-Peppas با معادله (۴) مشخص می‌شود:

$$Kt^n = \frac{M_t}{M_\infty} \quad (4)$$

که به شکل لگاریتمی به صورت معادله (۵) می‌باشد:

$$\log \frac{M_t}{M_\infty} = \log K + n \log t \quad (5)$$

که در این معادله M_t/M_∞ نسبت رهایش دارو در زمان t ، K ثابت سرعت، n توان پخش و t زمان رهایش می‌باشد. برطبق این مدل، مقدار n مکانیسم رهایش دارو را تعیین می‌کند. مقدارهای n در بازه ۰/۵ تا ۱ سینتیک انتقال غیر عادی، n در حدود ۰/۵ مکانیسم کنترل شده نفوذی خالص (نفوذ مطابق قانون فیک) و مقدارهای n کوچک‌تر از ۰/۵ نفوذ دارو را از روش یک ماتریس آماس یافته و روزنه‌های پر شده با آب از فرمولاسیون‌ها نشان می‌دهد [۴۱].

نتیجه‌ها و بحث

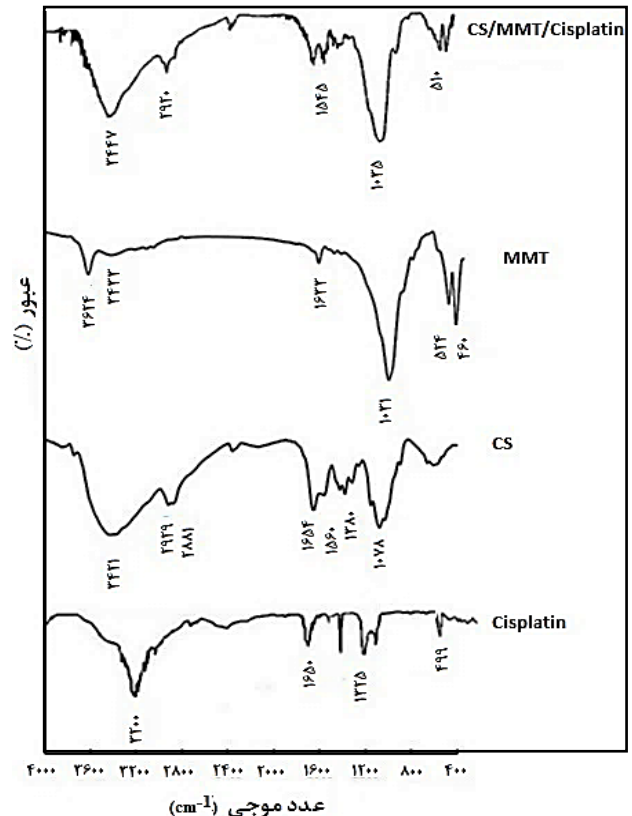
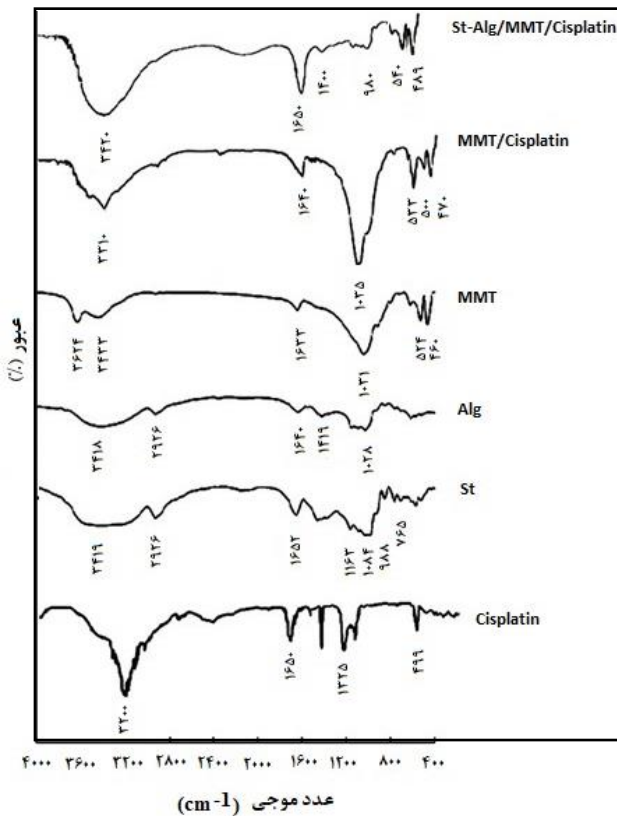
شناسایی و تعیین ویژگی‌های سامانه‌های نانو چندسازه‌ای St-Alg/MMT/Cisplatin و CS/MMT/Cisplatin

تجزیه و تحلیل FT-IR

اسپکتروسکوپی فروسرخ تبدیل فوریه (FT-IR) اطلاعات مفیدی را درباره پیوندهای شیمیایی، ساختار مولکولی و امتزاج پذیری پلیمرها

در سامانه‌های چندجزئی فراهم می‌آورد. طیف FT-IR برای یک مخلوط فیزیکی از دو پلیمر یا پلیمرهای امتزاج ناپذیر مجموع طیف‌های انفرادی هر کدام از ترکیب‌ها خواهد بود، درحالی‌که برای پلیمرهای با برهم کنش‌های الکترواستاتیک، تغییرهایی در طیف‌ها مانند شیفت در باندهای جذبی، پهن شدن باندها و یا ظهور باندهای تازه گواهی برای امتزاج پذیری پلیمرها خواهد بود [۴۲]. در این مطالعه تجزیه و تحلیل FT-IR برای ارزیابی وجود برهم کنش بین اجزا در سامانه‌های تهیه شده انجام گرفت.

طیف‌های FT-IR مربوط به سیس پلاتین (Cisplatin)، کیتوزان (CS)، مونت موریلونیت (MMT) و نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin در شکل ۱ آورده شده است. طیف FT-IR مربوط به سیس پلاتین پیک‌های مشخصه‌ای را در 3200 cm^{-1} مربوط به باند کششی NH_2 ، 1650 cm^{-1} مربوط به باند خمشی نامتقارن NH_2 ، 1325 cm^{-1} مربوط به باند خمشی متقارن NH_2 و 499 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند Pt-N نشان می‌دهد [۴۳]. در طیف مربوط به کیتوزان، پیک پهن موجود در ناحیه 3421 cm^{-1} مربوط به ارتعاش‌های کششی NH_2 و OH می‌باشد. باندهای موجود در 2990 cm^{-1} و 2881 cm^{-1} مربوط به ارتعاش‌های کششی CH، باندهای موجود در 1650 cm^{-1} و 1560 cm^{-1} مربوط به C-NH_2 ، باندهای موجود در 1423 cm^{-1} و 1380 cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاش‌های CH_2 و CH_3 ، باندهای در ناحیه $1154 - 1032 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به اتصال C-O-C و باند موجود در 898 cm^{-1} مربوط به C-N می‌باشد [۴۴]. در طیف مربوط به مونت موریلونیت باند موجود در 460 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی Si-O-Si، باند موجود در 524 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی Si-O-Al، باند موجود در 1031 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی Si-O، باند موجود در 1633 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی OH در H_2O ، باند موجود در 3433 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی OH در H_2O و باند موجود در 3624 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی OH در سطح درونی مونت موریلونیت می‌باشد [۴۵]. در طیف مربوط به نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin پیک‌های جذبی ویژه کیتوزان و مونت موریلونیت دیده می‌شوند و باند جذبی در 3447 cm^{-1} به صورت پهن دیده می‌شود که چنین پیش بینی می‌شود که باندهای ارتعاشی کیتوزان (کششی OH و NH) با باندهای مونت موریلونیت (کششی OH در H_2O) همپوشانی کرده‌اند [۴۶]. باندهای جذبی مربوط به ارتعاش کششی CH در گروه‌های متیل و متیلن کیتوزان نیز با شدت کم‌تر در طیف نانو چندسازه دیده می‌شوند. باند مربوط به ارتعاش خمشی NH از 1560 cm^{-1}



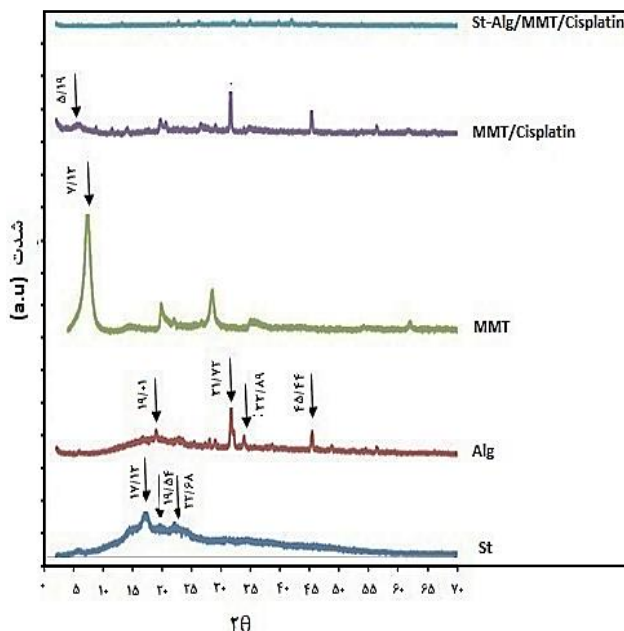
شکل ۲ - طیف FT-IR مربوط به سیس پلاتین (Cisplatin)، نشاسته (St)، آلژینات (Alg)، مونت موریلونیت (MMT)، MMT/Cisplatin و نانو چندسازه St-Alg/MMT/Cisplatin

شکل ۱ - طیف FT-IR مربوط به سیس پلاتین (Cisplatin)، کیتوزان (CS)، مونت موریلونیت (MMT) و نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin

نیز در 1765 cm^{-1} دیده می‌شود [۴۸]. طیف FT-IR مربوط به آلژینات باندهای جذبی را در ناحیه 3418 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی OH، ناحیه 2926 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی CH_2 ، ناحیه 1640 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی نامتقارن COO^- و ناحیه 1419 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی متقارن COO^- نشان می‌دهد. باندهای موجود در ناحیه $1200-900 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاش‌های کششی O-C-O در گروه‌های اتری و ارتعاش‌های کششی C-O در گروه‌های الکلی می‌باشند [۴۹]. در طیف FT-IR مربوط به MMT/Cisplatin، افزودن خاک رس به دارو باعث کاهش شدت پیک‌های مربوط به Cisplatin به دلیل بین لایه‌ای شدن دارو در لایه‌های سیلیکاتی خاک رس شده است. همچنین پیک‌های مربوط به خاک رس با کمی تغییر به دلیل افزوده شدن دارو ظاهر شده‌اند. در طیف FT-IR مربوط به نانو چندسازه St-Alg/MMT/Cisplatin برهم‌کنش بین نشاسته، آلژینات، سیس پلاتین و مونت موریلونیت دیده می‌شود. این بر هم‌کنش باعث می‌شود که ارتعاش‌های کششی مربوط به OH و NH_2 ترکیب‌ها، باهم هم‌پوشانی داشته و پیک پهنی را در بازه‌ی $3650-3200 \text{ cm}^{-1}$ نشان دهد.

در کیتوزان به 1545 cm^{-1} در نانو چندسازه CS-MMT تغییر مکان می‌دهد که نشان دهنده برهم‌کنش بین سطح‌های با بار منفی مونت موریلونیت با گروه‌های آمین پروتونه ($-\text{NH}_3^+$) کیتوزان می‌باشد [۴۷]. همچنین افزوده شدن خاک رس مونت موریلونیت به دارو باعث کاهش شدت پیک‌های مربوط به Cisplatin به دلیل بین لایه‌ای شدن دارو در لایه‌های سیلیکاتی خاک رس شده است و پیک‌های مربوط به خاک رس با کمی تغییر به دلیل افزوده شدن دارو ظاهر شده‌اند.

طیف‌های FT-IR مربوط به سیس پلاتین (Cisplatin)، نشاسته (St)، آلژینات (Alg)، مونت موریلونیت (MMT)، MMT/Cisplatin و نانو چندسازه St-Alg/MMT/Cisplatin در شکل ۲ نشان داده شده‌اند. این بخش توضیح داده شده است. در طیف مربوط به نشاسته، باندهای جذبی ویژه مربوط به ارتعاش‌های کششی و خمشی گروه OH به ترتیب در ناحیه‌های 3419 و 1652 cm^{-1} ظاهر می‌شوند. ارتعاش‌های کششی پیوند C-O در گروه‌های C-O-H و C-O-C مربوط به حلقه گلوکز بدون آب در ناحیه‌های 1163 ، 1084 و 988 cm^{-1} دیده می‌شوند. پیک مربوط به ارتعاش حلقه C-O-C در نشاسته

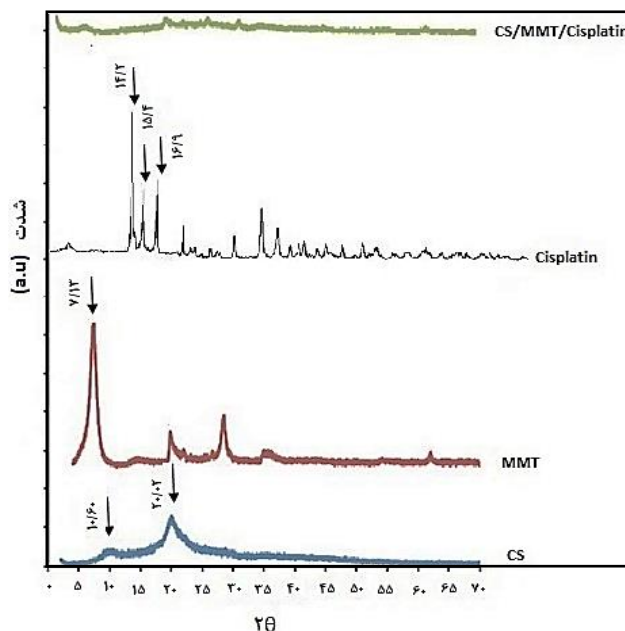


شکل ۴ - طیف XRD مربوط به نشاسته (St)، آلژینات (Alg)، مونت موریلونیت (MMT)، MMT/Cisplatin و نانو چندسازه St-Alg/MMT/Cisplatin

اتفاقی در زمینه پلیمر توزیع شده‌اند و این باعث افزایش سطح تماس بین MMT و داروی سیس پلاتین می‌شود. برخی از پیک‌های مربوط به کیتوزان و مونت موریلونیت در نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin ناپدید می‌شوند که بیانگر بی‌شکل بودن سامانه پلیمری تهیه شده می‌باشد. همان‌گونه که پیش‌تر بیان شد، روش تهیه این نانو چندسازه بر پایه شبکه‌ای شدن یونی کیتوزان کاتیونی و تری پلی فسفات (TPP) آنیونی است و چون سیس پلاتین نیز به محلول TPP افزوده می‌شود، در نتیجه بر هم‌کنش الکتروستاتیکی قوی بین گروه‌های آمین کیتوزان و آنیونی TPP یک حالت تقریباً بی‌شکل ایجاد شود.

الگوهای پراش XRD مربوط به نشاسته (St)، آلژینات (Alg)، مونت موریلونیت (MMT)، MMT/Cisplatin و نانو چندسازه St-Alg/MMT/Cisplatin در شکل ۴ نشان داده شده‌اند. در مورد الگوی XRD مربوط به مونت موریلونیت در آغاز این بخش توضیح داده شده است. در طیف XRD نشاسته یک پیک مشخصه قوی در $17/13^\circ$ و چند پیک با شدت متوسط در زاویه‌های $15/17^\circ$ ، $19/54^\circ$ ، $22/68^\circ$ ، $24/04^\circ$ (برحسب درجه) ظاهر می‌شوند [۵۳]. پیک‌های پراش آلژینات در زاویه‌های $19/01^\circ$ ، $21/72^\circ$ ، $33/89^\circ$ و $44/45^\circ$ دیده می‌شوند [۵۴، ۵۵].

در طیف سامانه‌های MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin



شکل ۳ - طیف XRD مربوط به کیتوزان (CS)، مونت موریلونیت (MMT) و نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin

سایر ارتعاش‌ها نیز با کمی جابه‌جایی، ضعیف شدن یا تداخل دیده می‌شوند.

تجزیه و تحلیل XRD

برای تعیین فازهای بلوری موجود در سامانه‌ها و مطالعه ساختار نانو چندسازه‌های تهیه شده از تجزیه و تحلیل XRD استفاده شد. الگوهای پراش XRD مربوط به سیس پلاتین (Cisplatin)، کیتوزان (CS)، مونت موریلونیت (MMT) و نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin در شکل ۳ نشان داده شده است. برای سیس پلاتین الگوهای پراش XRD در زاویه‌های $14/2^\circ$ ، $15/4^\circ$ و $16/9^\circ$ دیده می‌شوند [۵۰]. طیف XRD مربوط به کیتوزان دو پیک پهن در زاویه‌های $10/60^\circ$ و $20/02^\circ$ نشان می‌دهد [۴۲]. خاک رس مونت موریلونیت نیز پیک مشخصه‌اش را در زاویه $7/13^\circ$ که متناسب با فاصله بین لایه‌ای $1/24$ nm است (مطابق قانون براگ $n\lambda = 2d \sin\theta$) نشان می‌دهد [۵۱، ۵۲]. فاصله بین لایه‌های خاک رس مونت موریلونیت تعیین کننده مقدار جدا شدگی لایه‌های آن می‌باشد. این پدیده توسط تجزیه و تحلیل XRD قابل دیدن می‌باشد. در مورد نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin، پیک مشخصه مربوط به خاک رس مونت موریلونیت ($2\theta = 7/13^\circ$) ناپدید می‌شود و نشان دهنده این می‌باشد که صفحه‌های خاک رس کاملاً از هم فاصله گرفته‌اند و به اصطلاح در صفحه‌های MMT حالت تورق رخ داده است و صفحه‌ها به‌طور

متخلخلی را ایجاد می‌کنند. با افزودن خاک رس مونت موریلونیت به ماتریس کیتوزان و بارگذاری داروی سیس پلاتین بر روی آن، تصویر SEM از فرمولاسیون سامانه پلیمری CS/MMT/Cisplatin ثبت شد که این تصویر، چندسازه‌ای با ظاهر یکنواخت و متخلخل را نشان می‌دهد.

مطالعه‌های برون تنی رهائش دارو

تعیین پارامتر میزان مؤثر کپسوله شدن دارو در سامانه‌های نانو چندسازه‌ای St-Alg/MMT/Cisplatin و CS/MMT/Cisplatin

در آزمایش‌های رهائش دارو، پس از تهیه سامانه‌های پلیمری، پارامتر میزان مؤثر کپسوله شدن دارو (EE) مطابق معادله (۱) تعیین شد. مقادیر این پارامتر برای فرمولاسیون‌های هر دو سامانه نانو چندسازه‌ای در جدول ۱ مقایسه شده است.

با بررسی مقادیر EE محاسبه شده برای سامانه‌های رهائشی چنین نتیجه‌گیری می‌شود که افزودن MMT باعث افزایش در میزان کپسوله شدن دارو در نانو چندسازه‌ها به دلیل جای‌گیری دارو در بین لایه‌های سیلیکاتی شده است و همین امر پیش‌بینی می‌کند که سرعت رهائش دارو کاهش یابد. افزون بر این افزایش بیش‌تر مقدار MMT باعث کاهش میزان کپسوله شدن دارو در سامانه‌های پلیمری شده است. بنابراین مقدار بهینه‌ای از MMT با در نظر گرفتن سایر نتیجه‌ها نیز بایستی استفاده شود.

بررسی تأثیر خاک رس بر پروفیل رهائش داروی سیس پلاتین در سامانه‌های نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin

برای بررسی اثر مقدار خاک رس MMT در سامانه‌های نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin، مطالعه‌های رهائش دارو بر روی فرمولاسیون‌های گوناگون (۰٪، ۳۰٪، ۵۰٪ و ۷۰٪ خاک رس)، در محلول بافر pH=۷/۴ انجام گرفت. پروفیل رهائشی این سامانه‌ها در شکل ۷ نشان داده شده است.

نتیجه‌های به دست آمده نشان‌دهنده این مطلب است که رهائش از فرمولاسیون‌های دارای خاک رس MMT در مقایسه با فرمولاسیون بدون خاک رس آهسته‌تر می‌باشد. این پدیده به دلیل بین لایه‌ای شدن مولکول‌های داروی سیس پلاتین در لایه‌های سیلیکاتی MMT می‌باشد که از نفوذ دارو و رهائش آن بازدارد می‌کند. بنابراین سامانه‌های دارای MMT رفتار رهائشی کنترل شده‌ای را نشان می‌دهند. کاهش سرعت رهائش برای سامانه‌های نانو چندسازه‌ای پلیمر/خاک رس وابسته به مقدار خاک رس و منطقه سطحی لایه‌های سیلیکاتی خاک رس می‌باشد. وقتی مقدار MMT بسیار پایین

پیک مشخصه مربوط به خاک رس ($\lambda = 7/13^\circ$) به زاویه‌های کم‌تر منتقل شده و یا ناپدید می‌شود و نشان دهنده این می‌باشد که صفحه‌های خاک رس به طور کامل از هم فاصله گرفته‌اند و به اصطلاح در صفحه‌های MMT حالت تورق رخ داده است و صفحه‌ها به‌طور اتفاقی در زمینه پلیمر پخش شده‌اند که این باعث افزایش کارکرد MMT می‌شود. از سویی برهمکنش بین اجزا باعث شده تا پیک‌های ترکیب‌ها باهم تداخل یا همپوشانی داشته و سامانه پلیمری به دست آمده تقریباً بی‌شکل دیده شود.

مطالعه‌های ریخت‌شناسی

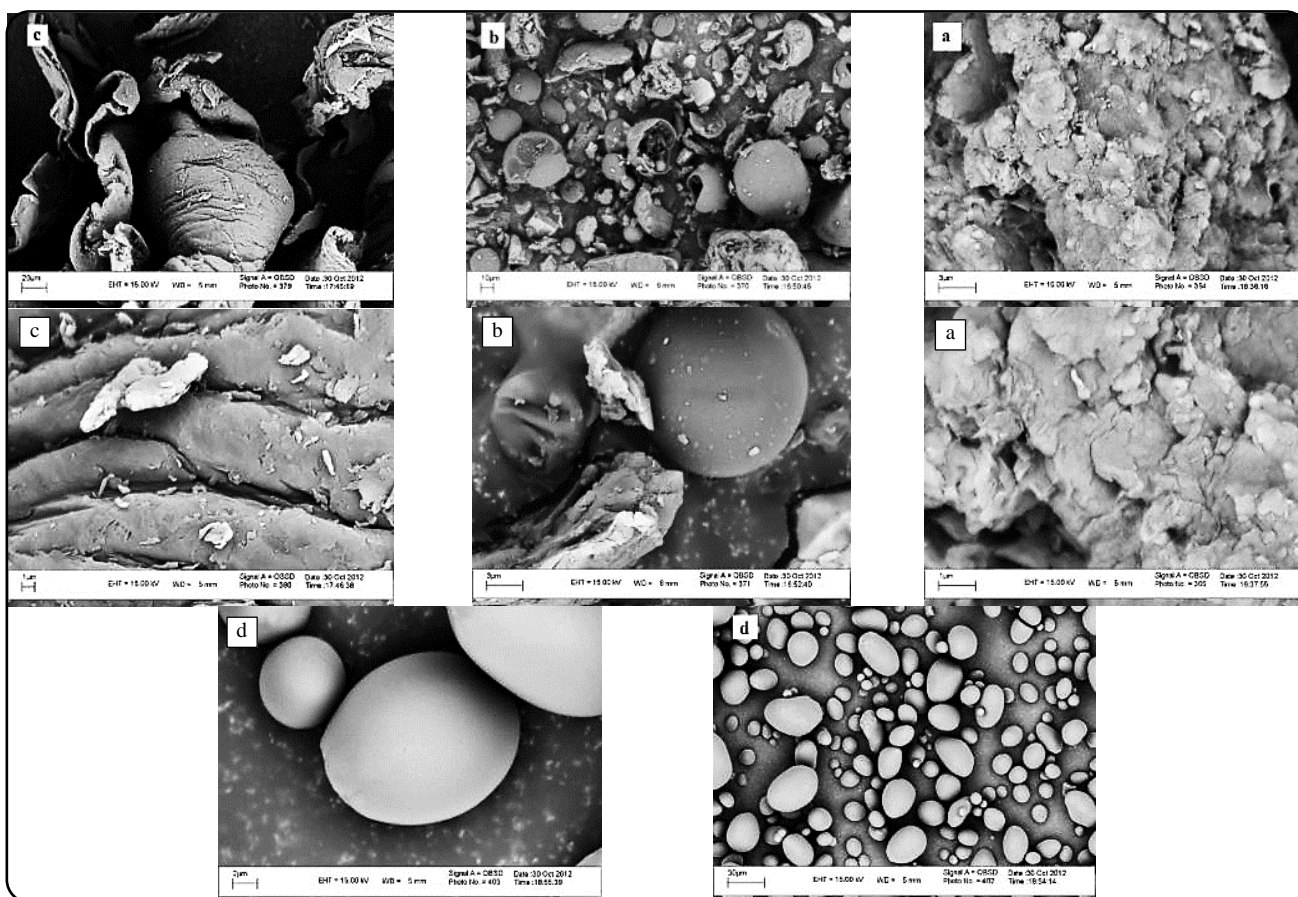
به منظور بررسی مورفولوژی، تصاویر SEM از ترکیب‌های مونت موریلونیت (MMT)، آلژینات (Alg)، نشاسته (St)، کیتوزان (CS)، سیس پلاتین/مونت موریلونیت (Cisplatin/MMT) و نانو چندسازه‌های CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin ثبت شد. این تصویرها در شکل‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است.

همان‌گونه که نشان داده شده ریخت‌شناسی سطح هر یک از نمونه‌ها به طور کامل با نمونه دیگر متفاوت است. تصویر SEM مربوط به مونت موریلونیت نشان می‌دهد که ساختار خاک رس به طور کامل متراکم بوده و بصورت لایه‌های روی هم قرار گرفته می‌باشد. تصویر SEM آلژینات دانه‌های کروی با شکل منظمی را نشان می‌دهد که اندازه آن‌ها در بازه $10-50 \mu\text{m}$ می‌باشند. در تصویر SEM مربوط به کیتوزان، کیتوزان سطوح شکسته مانند صاف و به هم متصل شده‌ای را دارد. تصویر SEM نشاسته، دانه‌های کروی و عدسی‌مانندی را در اندازه‌های $5-35 \mu\text{m}$ نشان می‌دهد که سطح این دانه‌ها به طور کامل صاف می‌باشد.

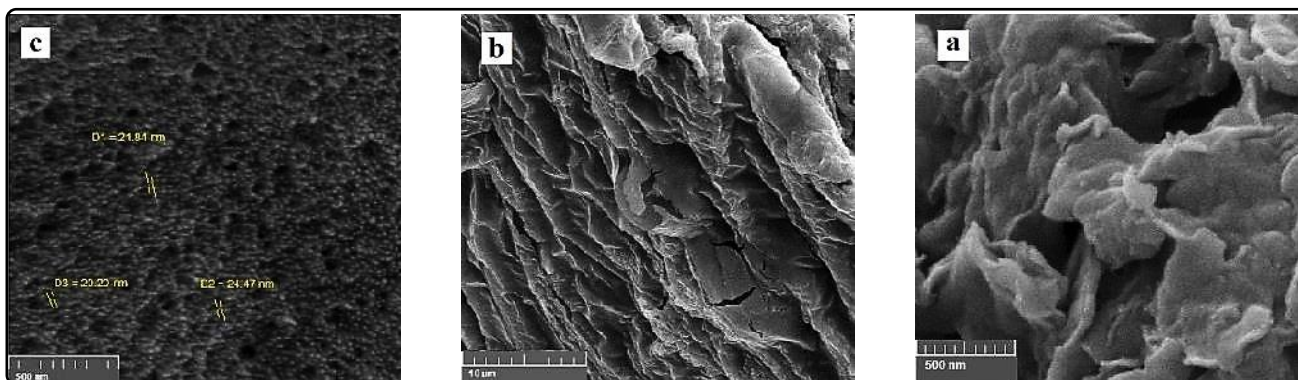
در مورد سامانه MMT/Cisplatin، لایه‌های MMT از هم فاصله گرفته‌اند که این نشان دهنده ورقه ورقه شدن مونت موریلونیت در سامانه نانو چندسازه‌ای MMT/Cisplatin می‌باشد و مهم‌ترین دلیل بر وارد شدن داروی سیس پلاتین به درون لایه‌های MMT است و به اصطلاح گفته می‌شود که یک چندسازه بین لایه‌ای تشکیل شده است. با افزودن پلیمرهای نشاسته و آلژینات به سامانه نانو چندسازه‌ای MMT/Cisplatin و تشکیل سامانه پلیمری St-Alg/MMT/Cisplatin، تصویر SEM از فرمولاسیون سامانه پلیمری St-Alg/MMT/Cisplatin گرفته شد. این تصویر نشان می‌دهد که پلیمرهای نشاسته و آلژینات، با به کار بردن عامل اتصال عرضی کلسیم کلرید، روی سطح نانو چندسازه MMT/Cisplatin بصورت یک روکش قرار می‌گیرند و ساختار

جدول ۱ - میزان مؤثر کپسوله شدن داروی سیس پلاتین در سامانه‌های نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin

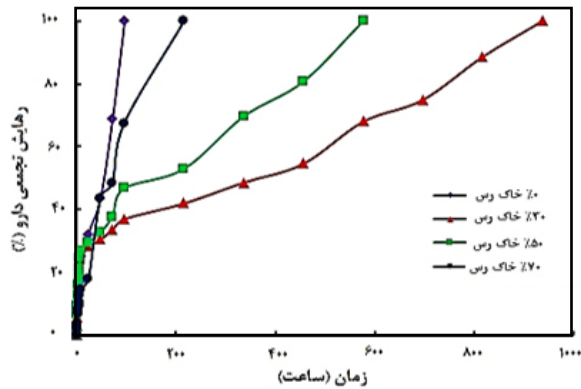
مقدار خاک رس در نانو چندسازه‌ها بر حسب درصد وزنی نسبت به پلیمر	میزان مؤثر کپسوله شدن \pm انحراف معیار (تعداد تکرار = ۳) CS/MMT/Cisplatin	میزان مؤثر کپسوله شدن \pm انحراف معیار (تعداد تکرار = ۳) St-Alg/MMT/Cisplatin
۰	$29/87 \pm 32$	$84/4 \pm 81$
۳۰	$59/7 \pm 40$	$90/87 \pm 60$
۵۰	$98/82 \pm 121$	$91/52 \pm 90$
۷۰	$40/8 \pm 64$	$86/17 \pm 110$



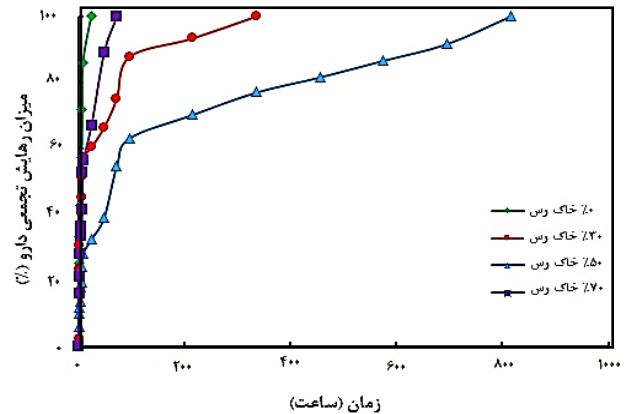
شکل ۵ - تصاویر SEM مربوط به (a) مونت موریلونیت، (b) آلژینات، (c) کیتوزان و (d) نشاسته در بزرگنمایی‌های گوناگون



شکل ۶ - تصویرهای SEM مربوط به (a) MMT/Cisplatin (b) نانو چندسازه St-Alg/MMT/Cisplatin و (c) نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin



شکل ۸ - پروفیل رهائشی فرمولاسیون‌های گوناگون رهائشی داروی سیس پلاتین در نانو چندسازهای St-Alg/MMT/Cisplatin (داده‌ها به صورت میانگین با $SD=3$ گزارش شده‌اند)



شکل ۷ - پروفیل رهائشی فرمولاسیون‌های گوناگون رهائشی داروی سیس پلاتین در نانو چندسازهای CS/MMT/Cisplatin (داده‌ها به صورت میانگین با $SD=3$ گزارش شده‌اند)

فرمولاسیون‌های دارای خاک رس MMT در مقایسه با فرمولاسیون بدون خاک رس رهائشی آهسته‌تری را نشان می‌دهد. این پدیده به دلیل وارد شدن مولکول‌های داروی سیس پلاتین در لایه‌های خاک رس می‌باشد که باز شدگی لایه‌های MMT با تجزیه و تحلیل XRD نیز به اثبات رسید. با نفوذ دارو در بین لایه‌ها رهائشی آن کندتر می‌شود. بنابراین سامانه‌های دارای MMT رفتار رهائشی کنترل شده‌ای را برای دارو نشان می‌دهند. در مورد تأثیر مقدار خاک رس در سرعت رهائشی داروی سیس پلاتین از فرمولاسیون‌های گوناگون نانو چندسازهای St-Alg/MMT/Cisplatin می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد فرمولاسیون دارای ۳۰٪ MMT، به طور مؤثری می‌تواند رهائشی دارو را پایدار نگه دارد، به طوری که در این نانو چندساز زمان لازم برای رهائشی ۵۰٪ دارو، حدود ۴ روز می‌باشد، که در مقایسه با سایر سامانه‌های گفته شده در منابع، مانند سامانه ژلی هیبریدی بر پایه کیتوزان-آلژینات با $T_{50\%}$ برابر با ۳۰ دقیقه [۳۵]، سامانه استات نشاسته-پلی اتیلن گلیکول-ژلاتین با $T_{50\%}$ برابر با ۲۵۰ دقیقه [۵۶]، سامانه کیتوزان عامل دار شده با کربوکسیلیک اسید با $T_{50\%}$ در حدود ۵۰-۱۰۰ دقیقه [۳۶]، طولانی‌تر است. همچنین خاک رس به دلیل منطقه سطحی بالا، خاصیت سم زدایی قوی از روش جذب مواد سمی متابولیسمی و همچنین جذب آب دارد که می‌تواند ناراحتی‌های سامانه گوارشی از جمله اسهال را که یکی از اثرهای جانبی معمول شیمی درمانی می‌باشد، مانع شود [۵۷، ۱۳].

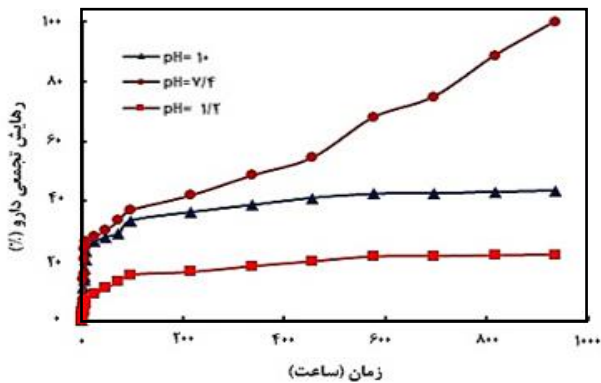
بررسی تأثیر pH بر پروفیل رهائشی داروی سیس پلاتین در سامانه‌های نانو چندسازهای St-Alg/MMT/Cisplatin و CS/MMT/Cisplatin
برای بررسی تأثیر pH بر رفتار رهائشی داروی سیس پلاتین، از سامانه نانو چندسازهای CS/MMT/Cisplatin، فرمولاسیون دارای ۵۰٪ MMT (فرمولاسیون بهینه) انتخاب شد و درصد رهائشی دارو در محلول‌های بافر با pHهای گوناگون ۱/۲، ۷/۴ و ۱۰ برای این سامانه تعیین شد. نتیجه‌های بررسی تأثیر pH در میزان رهائشی دارو در شکل ۹ نشان داده شده است.

مطابق نتیجه‌های به دست آمده، با افزایش pH از ۱/۲ به ۷/۴ افزایش چشمگیری در میزان رهائشی دیده می‌شود. نتیجه کلی

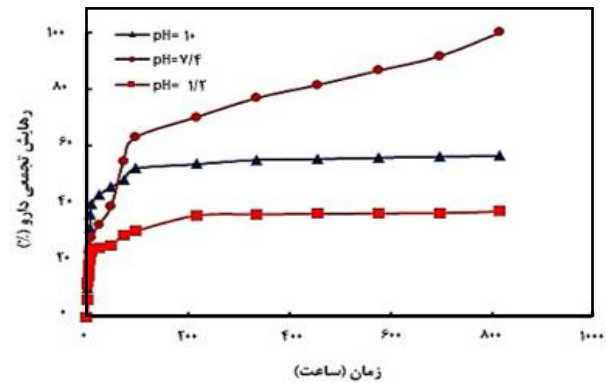
است، مقدار کمی دارو در بین لایه‌های سیلیکاتی اندک قرار گرفته است و در ساعت‌های اولیه همان مقدار کم رهائشی می‌یابد. با این حال وقتی مقدار MMT بسیار بیشتر می‌شود، به خوبی نمی‌تواند پخش شده و صفحه‌های خاک رس MMT از هم فاصله بگیرند و مقدار بیشتر از MMT به حالت توده‌ای باقی می‌ماند و مقدار کمی از داروی سیس پلاتین وارد لایه‌های MMT می‌شود و بیشتر تر روی MMT جذب می‌شود که باعث می‌شود رهائشی سریع دیده شود. با مقایسه پروفیل رهائشی دارو از فرمولاسیون‌های دارای مقدارهای گوناگون MMT چنین نتیجه‌گیری می‌شود که فرمولاسیون دارای ۵۰٪ MMT، به طور مؤثری می‌تواند رهائشی دارو را پایدار نگه دارد، به طوری که در این نانو چندساز زمان لازم برای رهائشی ۵۰٪ دارو، حدود ۴ روز می‌باشد، که در مقایسه با سایر سامانه‌های گفته شده در منابع، مانند سامانه ژلی هیبریدی بر پایه کیتوزان-آلژینات با $T_{50\%}$ برابر با ۳۰ دقیقه [۳۵]، سامانه استات نشاسته-پلی اتیلن گلیکول-ژلاتین با $T_{50\%}$ برابر با ۲۵۰ دقیقه [۵۶]، سامانه کیتوزان عامل دار شده با کربوکسیلیک اسید با $T_{50\%}$ در حدود ۵۰-۱۰۰ دقیقه [۳۶]، طولانی‌تر است. همچنین خاک رس به دلیل منطقه سطحی بالا، خاصیت سم زدایی قوی از روش جذب مواد سمی متابولیسمی و همچنین جذب آب دارد که می‌تواند ناراحتی‌های سامانه گوارشی از جمله اسهال را که یکی از اثرهای جانبی معمول شیمی درمانی می‌باشد، مانع شود [۵۷، ۱۳].

نتیجه‌های مربوط به پروفیل رهائشی دارو از سامانه‌های نانو چندسازهای St-Alg/MMT/Cisplatin نیز در شکل ۸ نشان داده شده است.

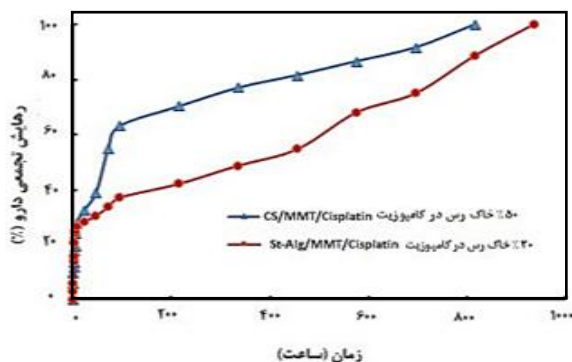
نتیجه‌های به دست آمده نشان می‌دهد که در این سامانه‌ها نیز



شکل ۱۰ - تأثیر pH بر رفتار رهایی داروی سیس پلاتین در نانو چندسازه St-Alg/MMT/Cisplatin دارای ۳۰٪ MMT (داده‌ها به صورت میانگین با $SD=3$ گزارش شده‌اند).



شکل ۹ - تأثیر pH بر رفتار رهایی داروی سیس پلاتین در نانو چندسازه CS/MMT/Cisplatin دارای ۵۰٪ MMT (داده‌ها به صورت میانگین با $SD=3$ گزارش شده‌اند).



شکل ۱۱ - مقایسه رهایی داروی سیس پلاتین از فرمولاسیون‌های بهینه سامانه‌های نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin (داده‌ها به صورت میانگین با $SD=3$ گزارش شده‌اند).

نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin نتیجه‌های به دست آمده از رهایی فرمولاسیون‌های بهینه این سامانه‌های نانو چندسازه‌ای در شکل ۱۱ نشان داده شده است. با مقایسه سامانه‌های رهایی در دو سامانه نانو چندسازه‌ای یادشده می‌توان نتیجه گرفت که رهایی داروی سیس پلاتین از سامانه CS/MMT/Cisplatin نسبت به سامانه St-Alg/MMT/Cisplatin آهسته‌تر است. به طوری که زمان لازم برای رهایی ۵۰٪ دارو برای سامانه St-Alg/MMT/Cisplatin برابر ۱۴ روز و برای سامانه CS/MMT/Cisplatin برابر ۴ روز می‌باشد. دلیل این امر حضور پلیمر سدیم آلژینات به کار رفته می‌باشد؛ زیرا آلژینات به خاطر برهمکنش‌های الکتروستاتیکی که با عامل اتصال عرضی کلسیم کلرید دارد، خاک رس MMT را به خوبی کپسوله می‌کند و سرعت رهایی را کاهش می‌دهد. پس از خروج داروی سیس پلاتین از لایه‌های خاک رس و رسیدن

به این صورت است که رهایی داروی سیس پلاتین در pH برابر ۷/۴ نسبت به pH‌های ۱/۲ و ۱۰ سریع‌تر است. این نتیجه پیشنهاد می‌کند که سامانه دارای ۵۰٪ MMT در صورت مصرف خوراکی، بیش‌ترین میزان رهایی داروی سیس پلاتین را در محیط به نسبت بازی روده نشان خواهد داد. نتیجه‌های همانند برای رهایی بیش‌تر داروی سیس پلاتین در محیط‌های نسبتاً قلیایی نسبت به محیط‌های اسیدی در منابع گزارش شده است [۹،۳۶].

به منظور بررسی تأثیر pH در رفتار رهایی داروی سیس پلاتین از سامانه نانو چندسازه‌ای St-Alg/MMT/Cisplatin نیز فرمولاسیون دارای ۳۰٪ MMT (فرمولاسیون بهینه) انتخاب شد و درصد رهایی دارو همانند سامانه نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin در سه pH گوناگون (۱/۲، ۷/۴ و ۱۰) برای این فرمولاسیون تعیین شد. نتیجه‌های این بررسی در شکل ۱۰ نشان داده شده است. مطابق نتیجه‌های به دست آمده، با افزایش pH از ۱/۲ به ۷/۴ میزان رهایی افزایش می‌یابد. در این سامانه، آلژینات با گروه‌های کربوکسیلات در pH‌های پایین جمع شدگی دارد، در حالی که این پلیمر در pH‌های بالا حل می‌شود. در نتیجه رهایی تند از ماتریس آلژینات در pH بالا اتفاق می‌افتد. این سامانه اگر به صورت خوراکی مصرف شود رهایی کمتری در محیط معده خواهد داشت. نتیجه‌های همانند برای رهایی بیش‌تر داروی سیس پلاتین در محیط‌های به نسبت قلیایی نسبت به محیط‌های اسیدی در منابع گزارش شده است [۹،۳۶].

مقایسه رهایی داروی سیس پلاتین از سامانه‌های نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin

برای مقایسه سرعت رهایی داروی سیس پلاتین در سامانه‌های

جدول ۲ - پارامترهای تعیین شده برای مدل‌های سینتیکی رهایش داروی سیس پلاتین برای فرمولاسیون‌های گوناگون سامانه نانو چندسازهای CS/MMT/Cisplatin

فرمولاسیون‌ها				پارامترها	مدل‌های سینتیکی
۷۰٪ خاک رس	۵۰٪ خاک رس	۳۰٪ خاک رس	۰٪ خاک رس		
۰/۹۶۵۴	۰/۹۲۹	۰/۹۲۸۱	۰/۹۵۵۳	R ²	Higuchi
۶۱/۶۶	۷۲/۴	۱۸/۲	۷۲/۴	K _H	
۰/۹۷۱۷	۰/۹۲۰۵	۰/۹۲۴۲	۰/۹۴۳۱	R ²	Korsmeyer- Peppas
۰/۵۸	۰/۵۰۷	۰/۹۶	۰/۳۰۳	N	
۰/۱۵	۰/۰۶۸	۰/۰۲۷	۰/۲۴	K _{KP}	

جدول ۳ - پارامترهای تعیین شده برای مدل‌های سینتیکی رهایش داروی سیس پلاتین برای فرمولاسیون‌های گوناگون سامانه نانو چندسازهای St-Alg/MMT/Cisplatin

فرمولاسیون‌ها				پارامترها	مدل‌های سینتیکی
۷۰٪ خاک رس	۵۰٪ خاک رس	۳۰٪ خاک رس	۰٪ خاک رس		
۰/۹۲۳۳	۰/۹۹۱۸	۰/۸۵۵۱	۰/۹۶۱۸	R ²	Higuchi
۸۰/۵۴	۱۰۰	۴۵/۷	۶۹/۱۸	K _H	
۰/۹۴۸۱	۰/۸۸۹۲	۰/۹۸۶۵	۰/۹۰۶۳	R ²	Korsmeyer- Peppas
۰/۷۱	۰/۳۷	۰/۲۷	۰/۵۷	N	
۰/۰۲۵	۰/۰۸۷	۰/۱	۰/۰۶۹	K _{KP}	

در سامانه‌های نانو چندسازهای CS/MMT/Cisplatin مدل Higuchi مناسب می‌باشد و از نفوذ فیک پیروی می‌کنند. برای فرمولاسیون ۷۰٪ خاک رس، مدل Korsmeyer-Peppas مناسب است، چون n آن به ۰/۵ نزدیک‌تر است از نفوذ فیک پیروی می‌کند. به‌طور کلی می‌توان چنین نتیجه گرفت که رهایش داروی سیس پلاتین با افزودن MMT به سامانه نانو چندسازهای CS/MMT/Cisplatin منجر به ایجاد مکانیسم انتقال دارو به حالت نفوذی فیک می‌شود. برای تعیین مکانیسم رهایش داروی سیس پلاتین از سامانه نانو چندسازهای St-Alg/MMT/Cisplatin، نتیجه‌های به دست آمده از مطالعه‌های رهایش با مدل‌های توضیح داده شده بررسی شدند. مقادیر ثابت رگرسیون (R²) و ثابت مدل‌های بررسی شده برای همه فرمولاسیون‌ها در جدول ۳ آورده شده است. همان‌گونه که دیده می‌شود برای فرمولاسیون‌های ۰٪ و ۵۰٪ خاک رس، مدل Higuchi مناسب می‌باشد و از نفوذ فیک پیروی می‌کنند. برای فرمولاسیون‌های ۷۰٪ و ۳۰٪ خاک رس، مدل Korsmeyer-Peppas مناسب است، چون n برای فرمولاسیون ۳۰٪ خاک رس کوچک‌تر از ۰/۵ می‌باشد مکانیسم نفوذ به‌واسطه یک ماتریس تورم‌یافته می‌باشد. برای فرمولاسیون ۷۰٪ خاک رس چون مقدار n از ۰/۵ بزرگ‌تر است از نفوذ غیر فیک پیروی می‌کند.

به پلیمر سدیم آلزینات اطراف خاک رس MMT، رهایش آهسته رخ می‌دهد. این رهایش آهسته می‌تواند به رهایش دو مرحله‌ای سیس پلاتین از فرمولاسیون‌های دارای آلزینات مرتبط باشد. در مرحله اول نفوذ مولکول‌های آب به درون ماتریس پلیمری رخ می‌دهد. در مرحله بعد به دلیل تورم‌پذیری پلیمر آلزینات، نفوذ سیس پلاتین به بیرون از پوسته پلیمر آلزینات رخ می‌دهد. سرانجام رهایش سیس پلاتین در حضور پلیمر آلزینات به طور آهسته اتفاق می‌افتد. این مشاهده‌ها نشان می‌دهد که رهایش داروی سیس پلاتین در سامانه St-Alg/MMT/Cisplatin به طور کنترل شده‌تری اتفاق می‌افتد که ضرورت خیلی مهم برای کاهش عارضه‌های جانبی داروی سیس پلاتین می‌باشد.

سینتیک رهایش دارو

برای تعیین سینتیک رهایش دارو، داده‌های رهایش در زمان ۸ ساعت اول، با دو مدل Higuchi و Korsmeyer-Peppas مطابق رابطه‌های آورده شده در بخش تجربی، بررسی شدند. مقادیر ثابت رگرسیون (R²) و ثابت‌های سرعت دو مدل برای همه فرمولاسیون‌ها در جدول‌ها ۲ و ۳ آورده شده است. مطابق جدول ۲، با توجه به نتیجه‌هایی که از مقدارهای R² برای مناسب بودن مدل‌ها به دست می‌آید، برای فرمولاسیون‌های ۰٪، ۳۰٪ و ۵۰٪ خاک رس

نتیجه گیری

در محیط‌هایی با pH شبیه‌سازی شده اسیدی معده و قلیایی روده نشان داد که پروفیل رهائش وابسته به pH بوده و در صورت مصرف خوراکی دارای بیش‌ترین رهائش در محیط نسبتاً قلیایی روده خواهد بود.

در این مطالعه سامانه‌های نانو چندسازه‌ای بر پایه پلیمرهای طبیعی کیتوزان، نشاسته و آلژینات به همراه خاک رس مونت موریلونیت برای رهائش داروی سیس پلاتین تهیه شدند. بررسی ریخت‌شناسی فرمولاسیون‌های تهیه شده با تصویرهای SEM نشان داد که در نانو چندسازه‌های تهیه شده صفحه‌های خاک رس به خوبی باز شده و دارو در بین این لایه‌ها قرار گرفته‌اند. مطالعه‌های FT-IR برهمکنش بین گروه‌های عاملی پلیمرهای طبیعی با سطوح با بار منفی MMT را تأیید و تشکیل نانو چندسازه‌ها را اثبات نمود. مطابق نتیجه‌های تجزیه و تحلیل XRD، تغییر مکان پیک مشخصه خاک رس به زاویه‌های پایین‌تر در نانو چندسازه‌ها، افزایش فاصله لایه‌های سیلیکاتی و تورق در این لایه‌ها را اثبات نمود. بررسی رهائش داروی ضد سرطان سیس پلاتین توسط سامانه‌های نانو چندسازه‌ای CS/MMT/Cisplatin و St-Alg/MMT/Cisplatin در شرایط برون تنی وابسته بودن چگونگی رهائش را به اجزای سامانه تأیید کرد. قرار گرفتن دارو در بین لایه‌های سیلیکاتی MMT منجر به رهائش کند و پایدار دارو شد، به طوری که زمان لازم برای رهائش ۵۰٪ دارو، در سامانه CS/MMT/Cisplatin تقریباً ۴ روز و برای سامانه St-Alg/MMT/Cisplatin ۱۴ روز تعیین شد. کند بودن رهائش باعث کاهش اثرهای جانبی دارو می‌شود، زیرا رهائش انفجاری نخواهد داشت که باعث دفع بیشتر دارو از بدن شده و نیاز به مصرف بیش‌تر دارو شود. بررسی رهائش دارو از فرمولاسیون‌های بهینه

فهرست نمادها

St	نشاسته
MMT	مونت موریلونیت
FT-IR	اسپکتروسکوپی فرسرخ تبدیل فوریه
SEM	میکروسکوپ الکترونی روبشی
EE	میزان مؤثر کپسوله شدن
CS	کیتوزان
Alg	آلژینات
Cisplatin	سیس پلاتین
XRD	پراش پرتو ایکس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۲

مراجع

- [1] Greco F., Vicent M.J., *Combination Therapy: Opportunities and Challenges for Polymer-Drug Conjugates as Anticancer Nanomedicines*, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **61(13)**: 1203-1213 (2009).
- [2] Deb A., Andrews N.G., Raghavan V., *Natural Polymer Functionalized Graphene Oxide for Co-delivery of Anticancer Drugs: In-Vitro and in-Vivo*, *International Journal of Biological Macromolecules*, **113**: 515-525 (2018).
- [۳] نبی تیر، م.، آقامیری، س.ف.، طلائع خوزانی، م.ر.، بررسی آزمایشگاهی تأثیر پوشش دهی کیتوسان در کاهش تجمع نانولوله‌های کربنی به عنوان حامل داروی ضد سرطان کوئرستین، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، **۳۶(۳)**: ۹۳ تا ۱۰۲ (۱۳۹۶)
- [4] Olad A., Farshi Azhar F., *Eco-friendly Biopolymer/Clay/Conducting Polymer Nanocomposite: Characterization and Its Application in Reactive Dye Removal*, *Fibers and Polymers*, **15(6)**: 1321-1329 (2014).

- [5] Reis A.V., Guilherme M.R. Moia T.A., Mattoso L.H.C., Muniz E.C., Tambourgi E.B., [Synthesis and Characterization of a Starch-Modified Hydrogel as Potential Carrier for Drug Delivery System](#), *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, **46**: 2567-2574 (2008).
- [6] Farshi Azhar F., Olad A., [A Study on Sustained Release Formulations for Oral Delivery of 5-Fluorouracil Based on Alginate-Chitosan/Montmorillonite Nanocomposite Systems](#), *Applied Clay Sciences*, **101**: 288-296 (2014).
- [7] Maghsoodi V., Yaghmaei S., Beigi S.M., [Influence of Different Nitrogen Sources on Amount of Chitosan Production by Aspergillusniger in Solid State Fermentation](#), *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, **27(1)**: 47-52 (2008).
- [8] Li P., Wang Y., Peng Z., She F., Kong L., [Development of Chitosan Nanoparticles as Drug Delivery Systems for 5-Fuorouracil and Leucovorin Blends](#), *Carbohydrate Polymers*, **85**: 698-704 (2011).
- [9] Farshi Azhar F., Shahbapour E., Olad A., [pH Sensitive and Controlled Release System Based on Cellulose Nanofibers-poly Vinyl Alcohol Hydrogels for Cisplatin Delivery](#), *Fibers and Polymers*, **18(3)**: 416-423 (2017).
- [10] Gonzalez V.M., Fuertes M.A., Alonso C., Perez J.M., [Is Cisplatin-Induced Cell Death Always Produced by Apoptosis](#), *Molecular Pharmacology*, **59**: 657-663 (2001).
- [11] Kelland L., [The Resurgence of Platinum-Based Chemotherapy](#), *Nature Reviews*, **7**: 573-584 (2007).
- [12] Dong Y., Feng S.S., [Poly \(D,L-lactide-co-Glycolide\)/Montmorillonite Nanoparticles for Oral Delivery of Anticancer Drugs](#), *Biomaterials*, **26**: 6068-6076 (2005).
- [13] Feng S.S., Mei L., Anitha P., Gan C.W., Zhou W., [Poly \(lactide\)-Vitamin E Derivative/Montmorillonite Nanoparticle Formulations for the Oral Delivery of Docetaxel](#), *Biomaterials*, **30**: 3297-3306 (2009).
- [14] Yu C.Y., Zhang X.C., Zhou F.Z., Zhang X.Z., Cheng S.X., Zhuo R.X., [Sustained Release of Antineoplastic Drugs from Chitosan-Reinforced Alginate Microparticle Drug Delivery Systems](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **357(1-2)**: 15-21 (2008).
- [15] Viseras C., Cerezo P., Sanchez, R., Salcedo I., Aguzzi C., [Current Challenges in Clay Minerals for Drug Delivery](#), *Applied Clay Science*, **48(3)**: 291-295 (2010).
- [16] Yang J.H., Lee J.H., Ryu H.J., Elzatahry A.A., Alothman Z.A., Choy J.H., [Drug-Clay Nanohybrids as Sustained Delivery Systems](#), *Applied Clay Science*, **130**: 20-32 (2016)
- [17] Olad A., Farshi Azhar F., [The Synergetic Effect of Bioactive Ceramic and Nanoclay on the Properties of Chitosan-Gelatin/Nanohydroxyapatite-Montmorillonite Scaffold for Bone Tissue Engineering](#), *Ceramics International*, **40**: 10061-10072 (2014).
- [18] Iliescu R.I., Andronescu E., Voicu G., Fica A., Covaliu C.I., [Hybrid Materials Based on Montmorillonite and Citostatic Drugs: Preparation and Characterization](#), *Applied Clay Science*, **52**: 62-68 (2011).
- [19] Carretero M.I., Pozo M., [Clay and Non-Clay Minerals in the Pharmaceutical Industry: Part I. Excipients and Medical Applications](#), *Applied Clay Science*, **46**: 73-80 (2009).

- [20] Joshi G.V., Kevadiya B.D., Patel H.A., Bajaj H.C., Jasra R.V., [Montmorillonite as a Drug Delivery System: Intercalation and *in Vitro* Release of Timolol Maleate](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **374**: 53-57 (2009).
- [21] Joshi G.V., Patel H.A., Kevadiya B.D., Bajaj H.C., [Montmorillonite Intercalated with Vitamin B1 as Drug Carrier](#), *Applied Clay Science*, **45**: 248-253 (2009).
- [22] Baek M., Lee J.A., Choi S.J., [Toxicological Effects of a Cationic Clay, Montmorillonite *in Vitro* and *in Vivo*](#), *Molecular & Cellular Toxicology*, **8**: 95-101 (2012).
- [23] Salcedo I., Aguzzi C., Sandri G., Bonferoni M.C., Mori M., Cerezo P., Sanchez R., Viseras C., Caramella C., [In Vitro Biocompatibility and Mucoadhesion of Montmorillonite Chitosan Nanocomposite: A New Drug Delivery](#), *Applied Clay Science*, **55**: 131-137 (2012).
- [24] Liu Q., Liu, Y., Xiang S., Mo X., Su S., Zhang J., [Apoptosis and Cytotoxicity of Oligo \(Styrene-co-Acrylonitrile\)-Modified Montmorillonite](#), *Applied Clay Science*, **51**: 214-219 (2011).
- [25] Lee Y.H., Kuo T.F., Chen B.Y., Feng Y.K., Wen Y.R., Lin W.C., Lin F.H., [Toxicity Assessment of Montmorillonite as a Drug Carrier for Pharmaceutical Applications: Yeast and Rats Model](#), *Biomedical Engineering Applications Basis and Communications*, **17**: 12-18 (2005)
- [26] Suna B., Ranganathana B., Feng S.S., [Multifunctional Poly \(D,L-lactide-co-glycolide\)/Montmorillonite \(PLGA/MMT\) Nanoparticles Decorated by Trastuzumab for Targeted Chemotherapy of Breast Cancer](#), *Biomaterials*, **29**: 475-486 (2008).
- [27] Depan D., Kumar A.P., Singh R.P., [Cell Proliferation and Controlled Drug Release Studies of Nanohybrids based on Chitosan-g-Lactic Acid and Montmorillonite](#), *Acta Biomaterialia*, **5**: 93-100 (2009).
- [۲۸] قنبرزاده، ب.، ابوالقاسمی فخری، ل.، دهقان نیا، ج.، انتظامی، ع.ا.، مقایسه نفوذ پذیری، زاویه تماس و ویژگی‌های گرمایی نانو چندسازه‌های بر پایه کربوکسی متیل سلولز دارای دو نوع نانو پرکننده: نانو رس و نانو ویسکر سلولز، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، (۳) ۳۲: ۱۳ تا ۲۴ (۱۳۹۲)
- [29] Oun R., Plumb J.A., Wheate N.J., [A Cisplatin Slow-Release Hydrogel Drug Delivery System Based on a Formulation of the Macrocyclic Cucurbituril, Gelatin and Polyvinyl Alcohol](#), *Journal of inorganic biochemistry*, **134**: 100-105 (2014).
- [30] Moura M., Gil M., Figueiredo M., [Delivery of Cisplatin from Thermosensitive Co-Cross-Linked Chitosan Hydrogels](#), *European Polymer Journal*, **49**: 2504-2510 (2013).
- [31] Yan X., Gemeinhart R.A., [Cisplatin Delivery from Poly \(Acrylic Acid-co-Methyl Methacrylate\) Microparticles](#), *Journal of Controlled Release*, **106**: 198-208 (2005).
- [32] Cheng C., Xia D., Zhang, X., [Biocompatible Poly\(N-Isopropylacrylamide\)-g-Carboxymethyl Chitosan Hydrogels as Carriers for Sustained Release of Cisplatin](#), *Journal of Materials Science*, **50**: 4914-4925 (2015).
- [33] Peng J., Qi T., Liao J., [Controlled Release of Cisplatin from pH-Thermal Dual Responsive Nanogels](#), *Biomaterials*, **34**: 8726-8740 (2013).
- [34] Likhitkar S., Bajpai A.K., [Magnetically Controlled Release of Cisplatin from Superparamagnetic Starch Nanoparticles](#), *Carbohydrate Polymers*, **87**: 300-308 (2012).

- [35] Cho S., Sun Y., Jarboe E.A., Soisson A.P., Dodson M.K., Gaffney D.K., Peterson C.M., Janát-Amsbury M.M., [Mucoadhesive Hybrid Gel Improves Intraperitoneal Platinum Delivery](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **458**: 148-155 (2013).
- [36] Rajan M., Murugan M., Ponnamma D., Sadasivuni K.K., Munusamy M.A., [Poly-Carboxylic Acids Functionalized Chitosan Nanocarriers for Controlled and Targeted anti-Cancer Drug Delivery](#), *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **83**: 201-211 (2016).
- [37] Papadimitriou S., Bikiaris D., Avgoustakis K., Karavas, E., Georgarakis, M., [Chitosan Nanoparticles Loaded with Dorzolamide and Pramipexole](#), *Carbohydrate Polymers*, **73**: 44-54 (2008).
- [38] Xing, J., Deng, L., Dong, A., [Chitosan/Alginate Nanoparticles Stabilized by Poloxamer for the Controlled Release of 5-Fluorouracil](#), *Journal of Applied Polymer Science*, **117**: 2354-2359 (2010).
- [39] Higuchi T., [Mechanism of Sustained Medication. Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices](#), *Journal of Pharmaceutical Science*, **52(12)**: 1145-1149 (1963).
- [40] Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, N.A., [Mechanisms of Solute Release from Porous Hydrophilic Polymers](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **15(1)**: 25-35 (1983).
- [41] Pasparakis, G., Bouropoulos, N., [Swelling Studies and in vitro Release of Verapamil from Calcium Alginate and Calcium Alginate-Chitosan Beads](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **323**: 34-42 (2006).
- [42] Pendekal M.S., Tegginamat P.K., [Hybrid Drug Delivery System for Oropharyngeal, Cervical and Colorectal Cancer- in Vitro and in Vivo Evaluation](#), *Saudi Pharmaceutical Journal*, **21(2)**: 177-186 (2013).
- [43] Jung S.-W., Jeong Y.-I., Kim Y.-H., Choi K.-C., Kim S.-H., [Drug Release from Core-Shell Type Nanoparticles of Poly \(DL-lactide-co-glycolide\)-grafted Dextran](#), *Journal of Microencapsulation*, **22**: 901-911 (2005).
- [44] El-Sherbiny I.M., Smyth H.D., [Poly \(ethylene glycol\)-Carboxymethyl Chitosan-Based pH-Responsive Hydrogels: Photo-Induced Synthesis, Characterization, Swelling, and in Vitro Evaluation as Potential Drug Carriers](#), *Carbohydrate Research*, **345**: 2004-2012 (2010).
- [45] Joshi G.V., Kevadiya B.D., Patel H.A., Bajaj H.C., Jasra R.V., [Montmorillonite as a Drug Delivery System: Intercalation and in Vitro Release of Timolol Maleate](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **374**: 53-57 (2009).
- [46] Wang L., Wang A., [Adsorption Characteristics of Congo Red onto the Chitosan/Montmorillonite Nanocomposite](#), *Journal of Hazardous Materials*, **147**: 979-985 (2007).
- [47] Celis R., Adelino M., Hermosín M., Cornejo J., [Montmorillonite-Chitosan Bionanocomposites as Adsorbents of the Herbicide Clopyralid in Aqueous Solution and Soil/Water Suspensions](#), *Journal of Hazardous Materials*, **209**: 67-76 (2012).
- [48] Namazi H., Dadkhah A., Mosadegh M., [New Biopolymer Nanocomposite of Starch-Graft Polystyrene/Montmorillonite Clay Prepared Through Emulsion Polymerization Method](#), *Journal of Polymers and the Environment*, **20**: 794-800 (2012).

- [49] Vijaya Y., Popuri S.R., Boddu V.M., Krishnaiah A., [Modified Chitosan and Calcium Alginate Biopolymer Sorbents for Removal of Nickel \(II\) Through Adsorption](#), *Carbohydrate Polymers*, **72**: 261-271 (2008).
- [50] Tseng C.L., Yang K.C., Yen K.C., Wu S.Y.H., Lin F.H., [Preparation and Characterization of Cisplatin-Incorporated Gelatin Nanocomplex for Cancer Treatment](#), *Current Nanoscience*, **7**: 932-937 (2011).
- [51] Namazi H., Dadkhah A., Mosadegh M., [New Biopolymer Nanocomposite of Starch-Graft Polystyrene/Montmorillonite Clay Prepared through Emulsion Polymerization Method](#), *Journal of Polymer and Environment*, **20**: 794-800 (2012).
- [52] Huang M., Yu J., [Structure and Properties of Thermoplastic Corn Starch/Montmorillonite Biodegradable Composites](#), *Journal of Applied Polymer Science*, **99**: 170-176 (2006).
- [53] Saikia J.P., Banerjee S., Konwar B.K., Kumar A., [Biocompatible Novel Starch/Polyaniline Composites: Characterization, Anti-Cytotoxicity and Antioxidant Activity](#), *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **81**: 158-164 (2010).
- [54] Olad A., Farshi Azhar F., [A Study on the Adsorption of Chromium \(VI\) from Aqueous Solutions on the Alginate-Montmorillonite/Polyaniline Nanocomposite](#), *Desalination and Water Treatment*, **52**: 13-15 (2014).
- [55] Li Y., Zhao X., Xu Q., Zhang Q., Chen D., [Facile Preparation and Enhanced Capacitance of the Polyaniline/Sodium Alginate Nanofiber Network for Supercapacitors](#), *Langmuir*, **27**: 6458-6463 (2011).
- [56] Raj V., Prabha G., [Synthesis, Characterization and *in Vitro* Drug Release of Cisplatin Loaded Cassava Starch Acetate-PEG/Gelatin Nanocomposites](#), *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, **21**: 10-16 (2016).
- [57] Cypes S.H., Saltzman W.M., Giannelis E.P., [Organosilicate-Polymer Drug Delivery Systems: Controlled Release and Enhanced Mechanical Properties](#), *Journal of Controlled Release*, **90**: 163-169 (2003).