

سنتز و مشخصه‌یابی سامانه نوین ره‌ایش دارو بر پایه نانوذره‌های ایمونوگلوبولین G و مطالعه ره‌ایش داروی اگزالی‌پلاتین از آن

منا شهلائی، مریم سعیدی فر*⁺، علی زمانیان

گروه پژوهشی موادزیستی، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران

چکیده: سنتز حامل‌های دارویی پایدار پروتئینی بر پایه‌ی ایمونوگلوبولین G به منظور استفاده‌ی آن‌ها در ره‌ایش داروی ضدسرطان اگزالی‌پلاتین انجام و نانوذره‌ها با استفاده از آزمون طیف‌سنجی فرسرخ (FT-IR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشخصه‌یابی شدند. در این پژوهش، ره‌ایش داروی اگزالی‌پلاتین در پروتئین خالص و دو نسبت گوناگون ۱ و ۲ نسبت به نانوذره‌ها مطالعه و بازده کپسوله شدن و درصد بارگذاری در آن‌ها مطالعه شد. رفتار ره‌ایش دارو در سه سامانه گوناگون نشان داد که نانوذره‌های پروتئینی زمان ره‌ایش را افزایش داده و نیز ره‌ایش دارو آهسته‌تر از ره‌ایش در پروتئین خالص اتفاق می‌افتد. مکانیسم ره‌ایش دارو بررسی و مشخص شد نوع مکانیسم انتشار از نوع فیککی است. به این ترتیب، این سامانه طراحی شده برای دستیابی و معرفی سامانه ره‌ایش داروی ضدسرطانی مناسب است.

واژه‌های کلیدی: ایمونوگلوبولین G؛ نانوذره پروتئینی؛ ره‌ایش دارو؛ اگزالی‌پلاتین.

KEYWORDS: Immunoglobulin G; Protein-nanoparticle; Drug delivery; Oxaliplatin.

مقدمه

از پلیمرها به طور چشمگیری در طراحی سامانه‌های کنترل ره‌ایش دارو/ژن هدفمند استفاده می‌شود. با این حال، پلیمرهای مصنوعی مشکل‌هایی از قبیل استفاده از سورفکتانت^(۱) و حلال‌های سمی را به همراه دارند و حتی می‌توانند سامانه ایمنی بدن را تحریک کنند. به همین منظور بیومولکول‌های طبیعی از جمله پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها جایگزین‌های مناسبی خواهند بود [۴، ۵]. افزون بر این، نانوذره‌های پروتئینی با توجه به ساختار خود قابلیت اصلاح سطح و اتصال داروها و لیگاند^(۲)‌های هدف‌گیری را دارند [۲]. سامانه‌های ره‌ایش دارو بر پایه‌ی نانوذره‌ها به منظور درمان سرطان توسعه یافته و مواد بسیاری به عنوان حامل به منظور بهبود تأثیر درمانی و ایمنی داروهای ضد سرطان مورد بررسی قرار گرفتند. در حال حاضر

در چندین دهه‌ی گذشته، پیشرفت در حوزه نانوفناوری موجب پیدایش فرصت‌هایی در زمینه‌ی علوم پزشکی و ره‌ایش دارو و گسترش چشمگیر سامانه‌های دارورسانی نوین در اندازه‌های نانو و میکرو شده است. نانوذره‌ها به طور گسترده‌ای برای کاربردهای گوناگون به ویژه عامل‌های تشخیصی و درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱، ۲]. این ذره‌ها، اندازه‌های در حدود ۱۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر دارند. هدف اصلی در طراحی آن‌ها به عنوان یک سامانه ره‌ایش دارو، کنترل اندازه ذره‌ها و ویژگی‌های سطحی به منظور دست‌یابی به دوز دارویی دلخواه و هدف‌گیری اختصاصی بافت مورد نظر است [۳]. ویژگی‌های مورد نظر این سامانه ره‌ایشی زیست تخریب پذیری، سایز کوچک و افزایش مدت زمان حضور در گردش خون می‌باشد.

*عهده دار مکاتبات

+E-mail: saeidifar@merc.ac.ir

(۱) Surfactant

(۲) Ligand

باکتریایی است و به تنهایی نیز به عنوان دارو تزریق می‌شود [۱۳، ۱۴]. در سال ۲۰۰۱ میلادی، وانگ و همکاران، میزان رهایش ایمونوگلوبولین G انسانی را از داخل میکروکره زیست تخریب پذیر^(۴) پلی لاکتیک اسید و پلی لاکتیوگلیکولیک اسید^(۵) را در ۵۰ روز مدل سازی و بررسی کردند [۱۵]. در سال ۲۰۰۴ میلادی نیز در مطالعه‌ای دیگر با روش S/O/W و امولسیون میزان رهایش پروتئین بررسی شد [۱۶]. در سال ۲۰۱۴ میلادی مطالعه‌هایی در جهت افزایش پایداری آنتی بادی anti-TNF alpha در میکروکره‌های پلی لاکتیوگلیکولیک اسید توسط مارکت^(۶) و همکاران صورت گرفت و نرخ رهایش آن بررسی شد [۱۷].

در ادامه مطالعه و کاربرد پروتئین ایمونوگلوبولین G برای اثربخشی و کاهش عفونت و التهاب داروهای ضدسرطان اگزالی پلاتین، نانوذره‌های ایمونوگلوبولین طراحی، سنتز و با روش‌های FT-IR، SEM و AFM شناسایی شد. درصد بارگذاری، بازده کپسوله شدن و رفتار رهایش داروی اگزالی پلاتین مطالعه و مکانیسم رهایش دارو با استفاده از معادله‌های ریاضی بررسی شد. امید است این سامانه نوین رهایش دارو بتواند کاندیدای مناسبی برای رهایش آهسته داروهای ضدسرطانی در راستای افزایش اثربخشی و کاهش سمیت سلولی باشد.

بخش تجربی

مواد و دستگاه‌ها

پودر ایمونوگلوبولین G (۹۹٪ الکتروفورز) با وزن مولکولی ۱۵۰ کیلودالتون به منظور ساخت نانوذره‌ها و پودر EDC-HCl نیز به عنوان عامل شبکه‌ای کننده مورد استفاده قرار گرفت. این دو ماده از شرکت سیگما آلد ریچ امریکا خریداری شدند. داروی اگزالی پلاتین به صورت پودر سفید رنگ (وزن ملکولی ۳۹۷/۲ گرم بر مول) از شرکت فرانسوی مایلن^(۷) خریداری شد. پودر سدیم کلرید و اتانول (خلوص ۹۹٪) نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شده و در این آزمایش استفاده شدند. محلول ۰/۹ درصد سدیم کلرید در آزمایشگاه آماده شد.

دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^(۸) مدل میرا 3-XMU ساخت شرکت تسکان جمهوری چک، دستگاه طیف‌سنج تبدیل

از نانوذره‌های پروتئینی مانند آلبومین، ژلاتین، کیتوسان و آلژینات به منظور کاهش اثرهای جانبی داروها استفاده می‌شود [۶-۹]. داروهای بسیاری بر پایه نانوذره‌های آلبومینی تجاری شده و در دسترس هستند که از شناخته شده‌ترین آن‌ها، آبراکسان^(۱) است که از نانوذره‌های آلبومین و داروی ضدسرطان پاکلی تاکسل^(۲) تشکیل شده است [۱۰]. اگزالی پلاتین یکی از داروی ضدسرطان نسل سوم مشتق شده از پلاتین است که اثر درمانی آن بر روی سرطان روده بزرگ ثابت شده است. این دارو ترکیبی آبدوست از پلاتین است که مانند دیگر مشتق‌های پلاتین از جمله سیس پلاتین و کربوپلاتین از همانند سازی DNA جلوگیری می‌کند. بعد از تزریق داخل وریدی، اگزالی پلاتین به طور وسیعی در بدن پخش شده و به طور غیر قابل برگشتی به گلبول‌های قرمز متصل می‌شود که بالطبع فعالیت آنتی‌نئوپلاستیک دارو کاهش یافته و سبب انباشتگی کم دارو در بافت‌های تومور پس از تزریق وریدی می‌شود. این دارو به ترکیب‌های فعال و غیرفعال متابولیزه شده و عمدتاً از راه ادرار دفع می‌شود. برای این منظور لازم است داروی بیش‌تری به بدن تزریق شده تا اثر درمانی دارو به حد کافی باشد اما اثرهای جانبی مصرف دارو از جمله کم‌خونی، درد قفسه سینه، سرفه مدام، تنگی نفس، درد شکم، بی‌اشتهایی، کم‌دردی، اسهال، یبوست، سرگیجه، تب، سردرد، سوء هاضمه، خستگی، بی‌خوابی، تهوع، لرز، عفونت دستگاه تنفس سبب محدود شدن استفاده از آن می‌شود. به همین منظور طراحی یک سامانه رهایشی برای کاهش اثرهای جانبی این دارو لازم و ضروری است [۱۱، ۱۲، ۱۳].

درمان سرطان بر پایه‌ی ایمونوگلوبولین‌ها، به دلیل هدف‌گیری آنتی‌ژن، اثر بخشی و زیست‌سازگاری^(۳) و کاهش عفونت و التهاب به طور فزاینده‌ای رو به افزایش است [۲]. ایمونوگلوبولین‌های G، مولکول‌های بزرگ و Y شکلی هستند و وزن مولکولی بالایی در حدود ۱۵۰ کیلو دالتون دارند. هر مولکول ایمونوگلوبولین G، از دو زنجیره‌ی سنگین و دو زنجیره‌ی سبک تشکیل شده، که با پیوندهای دی‌سولفید به هم متصل شده‌اند. ایمونوگلوبولین‌های G، ۷۰ تا ۸۵ درصد آنتی بادی‌های جریان خون و مایع‌های بدن را شامل می‌شوند و سد محافظتی در برابر ویروس‌ها و عفونت‌های

(۱) Abraxane

(۲) Paclitaxel

(۳) Biocompatibility

(۴) Polylactic acid (PLA)

(۵) Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA)

(۶) Marquette

(۷) Mylan

(۸) Scanning Electron Microscopy

رسم شد. با محاسبه معادله بهترین خط راست، غلظت دارو در هر عدد جذب ثبت شده‌ای قابل محاسبه خواهد بود.

چگونگی بارگذاری دارو

پس از سنتز و خالص سازی نانوذره‌ها، نسبت‌های ۱ به ۱ و ۱ به ۲ از داروی اگزالی پلاتین و نانوذره‌ها به مدت ۲۴ ساعت با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس هم خورد. سپس محلول دارای دارو و نانوذره‌ها با سرعت ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شد تا داروی بارگذاری نشده به صورت سرباره خارج شود و ذره‌ها ته نشین شده در محلول سدیم کلرید (۰/۹ درصد) با استفاده از فراصوت معلق شد. این روش بارگذاری برای مقایسه با محلول ایمونوگلوبولینی که نانوذره نشده است با نام ایمونوگلوبولین خالص انجام شد.

مطالعه رهایش دارو

محلول دارای دارو و نانوذره‌ها به کیسه دیالیز ۱۲ کیلوالتون (اختلاف وزن ملکولی دارو و نانوذره‌ها سبب خروج داروی رهایش یافته از نانوذره‌ها می‌شود)، منتقل و دو سر کیسه‌ی دیالیز را بسته و در بشر دارای ۱۵ میلی‌لیتر بافر فسفات قرار داده شد و با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و در دمای اتاق هم خورد. در فاصله‌های زمانی مشخص در طول ۱۴۰ ساعت، از محلول درون بشر به میزان ۳ میلی‌لیتر برداشته و به همان میزان از بافر به آن افزوده شد. سرانجام با استفاده از طیف‌سنجی جذبی مقدار جذب دارو در طول موج بیشینه اگزالی پلاتین (۲۴۷ نانومتر) ثبت شد تا با استفاده از نمودار استاندارد غلظت داروی رها شده در هر زمان محاسبه شود.

بخش نظری

محاسبه درصد بارگذاری و بازده کپسوله شدن دارو

با استفاده از فرمول‌های زیر بازده کپسوله کردن (EE%) و درصد بارگذاری دارو (DL%) بررسی شد. که W_0 نشان دهنده مقدار داروی به دام افتاده در نانوذره‌ها، W_1 مقدار کل دارو و W نشان دهنده مقدار نانوذره‌ها است.

$$Ec(\%) = \frac{W_0}{W_1} \times 100 \quad (1)$$

$$Dl(\%) = \frac{W_0}{W} \times 100 \quad (2)$$

فوریه فروسرخ (FT-IR) مدل Vector33 ساخت شرکت بروکر آمریکا، دستگاه طیف سنج جذبی مرئی و فرابنفش (UV-VIS) مدل T80+ ساخت شرکت تی جی اینسترومنت^(۱) انگلستان، دستگاه میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) ساخت شرکت پارک سیستمز کره جنوبی، ترازوی دیجیتال با دقت صدهزارم گرم ساخت شرکت سارتوریوس آلمان (مدل CP324S)، هم‌زن مغناطیسی با قابلیت تنظیم سرعت ساخت شرکت ویس استیر کشور کره جنوبی، دستگاه اندازه گیری pH ساخت شرکت متراهم کشور سوئیس، دستگاه سانتریفیوژ (Hettich® Universal 320/320R) ساخت کشور آلمان و دستگاه فراصوت (sonoswiss sw 6H) ساخت کشور سوئیس برای شناسایی و مطالعه رهایش دارو مورد استفاده قرار گرفت. همه آزمایش‌های منحنی استاندارد، بارگذاری و رهایش دوبار برای مطالعه انجام شدند.

روش آماده سازی نانوذره‌ها

آماده سازی نانوذره‌ها پروتئینی با استفاده از روش حذف حلال انجام شد [۱۸، ۱۹]. مقدار ۵۰ میلی‌گرم از پودر ایمونوگلوبولین G را در ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۹ درصد سدیم کلرید حل کرده و سپس ۸ میلی‌لیتر از اتانول با نرخ ۲ میلی‌لیتر در دقیقه به محلول افزوده شد [۲۰، ۲۱]. برای پایداری ذره‌ها، میزان ۵ میلی‌گرم از کراس لینک EDC-HCl در ۵۰۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر حل و محلول دارای کراس لینکر به محلول پروتئینی افزوده شد و به مدت سه ساعت با سرعت ۶۰۰ دور در دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس هم‌زده شد. سپس نانوذره‌ها با استفاده از سه بار سانتریفیوژ با سرعت ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق و با استفاده از اولتراسونیک شستشو و در محلول ۰/۹ درصد سدیم کلرید در یخچال نگهداری شد.

لازم به ذکر است که در این پژوهش، نرخ افزایش اتانول در هنگام سنتز نانوذره، غلظت پروتئین، وجود نمک و استفاده از بافر فسفات و کراس لینک در سایز مطلوب نانوذره‌های مؤثر است که بهینه سازی شده است [۲۲].

رسم نمودار واسنجی

غلظت‌های متفاوت دارو (۰/۵۵، ۱/۱۰ و ۲/۳۰ میلی‌مولار) تهیه و مقدار جذب برای هر کدام از آن‌ها در طول موج مشخصه داروی اگزالی پلاتین (۲۴۷ نانومتر) ثبت و نمودار جذب برحسب هر غلظت

(۱) TG instruments

در مقابل زمان، مدل هیگچی نیز از طریق رسم درصد رهائش داروی تجمعی در مقابل ریشه دوم زمان به دست می‌آید. مدل کورسمایر- پیاس از طریق رسم لگاریتم درصد رهائش داروی تجمعی در مقابل لگاریتم زمان به دست می‌آید.

نتیجه‌ها و بحث

طیف‌سنجی فروسرخ

از طیف‌سنجی فروسرخ برای تعیین ساختار ایمونوگلوبولین G خالص و نانوذره‌ها استفاده شد. همان‌گونه که در شکل ۱ دیده شده است، منطقه طیفی 3000 تا 3600 cm^{-1} ، شامل ارتعاش‌های کششی پیوندهای O-H، N-H و C-H پروتئین است. پیک جذبی در 3291 cm^{-1} به علت عامل آمیدی (N-H) پروتئین‌هاست. ارتعاش‌های کششی متقارن C-H گروه‌های متیل و متیلن در حدود 2964 cm^{-1} دیده شد. باند جذبی قوی در 1646 cm^{-1} به ارتعاش-های C-O در پروتئین تخصیص داده می‌شود درحالی که باند ارتعاشی در 1534 cm^{-1} ناشی از ارتعاش‌های خمشی N-H است.

پیک‌های جذبی در منطقه 1450 تا 1250 cm^{-1} به علت تغییر شکل گروه‌های متیل و متیل بوده و ارتعاش‌های کششی متقارن و نامتقارن P-O در حدود 1238 و 1080 cm^{-1} مرتبط با ساختار داروی اگزالی‌پلاتین است. بازه‌ی زیر 1000 cm^{-1} مرتبط با پیک اثر انگشت^(۱) و نشان دهنده تغییر در ساختار ایمونوگلوبولین پیش و پس از اضافه کردن عامل شبکه‌ای کننده است [۲۶].

با مقایسه طیف ایمونوگلوبولین خالص و نانوذره‌های ایمونوگلوبولین دیده می‌شود تغییر محسوس در پیک‌های شاخص به وجود نیامده است که نتیجه عدم تغییر یافتن ساختاری در اثر ایجاد نانوذره‌ها است و در نتیجه شرایط دلخواه از نظر حضور گروه‌های عاملی برای بارگذاری دارو وجود دارد. طیف نانوذره حاوی دارو نیز پیک مشخصی را در ناحیه 1100 تا 1200 cm^{-1} به علت حضور دارو نشان می‌دهد که حضور دارو را در سامانه طراحی شده تأیید می‌کند.

اندازه و ریخت‌شناسی نانوذره‌های پروتئینی

اندازه ذره‌های پروتئینی سنتز شده با استفاده از تصویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی و نرم افزار آنالیز تصویرهای میکروسکوپی Image J بررسی شد و نشان داد که اندازه ذره‌ها 150 نانومتر می‌باشد. این سایز ذره‌ها به خوبی قابل استفاده در مطالعه رهائش دارو می‌باشد.

مکانیسم‌های رهائش دارو

به منظور بررسی مکانیسم‌های رهائش دارو از سه مدل سینتیکی درجه صفر، درجه اول، هیگچی و معادله کورسمایر-پیاس که به طور معمول به عنوان الگوهای رهائشی مطرح هستند، استفاده شد [۲۳، ۲۴]. مدل درجه صفر از غلظت دارو مستقل بوده و به انحلال آن وابسته است و براساس معادله زیر بیان می‌شود:

$$C_t = C_0 + K_0 t \quad (3)$$

که در آن C_0 مقدار اولیه دارو در محلول، K_0 ثابت سرعت درجه صفر و C_t مقدار داروی حل شده در زمان t است. مدل درجه اول رهائش وابسته به غلظت است.

$$\log C = \log C_0 + \frac{K}{2.303} t \quad (4)$$

که در آن k ثابت سرعت درجه اول، C غلظت دارو و C_0 غلظت اولیه دارو است. مدل هیگچی از معادله زیر برای توصیف رهائش دارو از سامانه‌های پلیمری استفاده می‌کند.

$$\frac{C_t}{C_\infty} = kt'^n \quad (5)$$

که در آن k ثابت هیگچی و C_t/C_∞ رهائش داروی تجمعی در زمان t می‌باشد. مدل کورسمایر-پیاس نیز شبیه سازی دارو از ماتریس‌های پلیمری را بیان می‌کند.

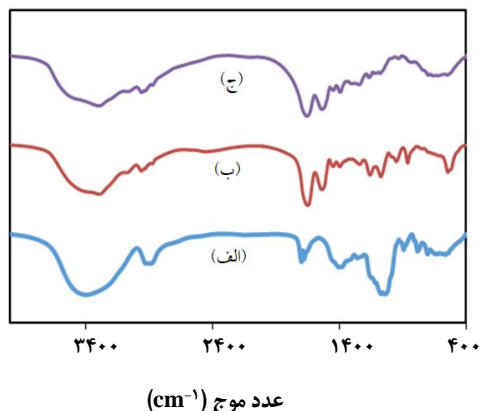
$$\frac{C_t}{C_\infty} = k' t^n \quad (6)$$

که در آن C_t/C_∞ میزان داروی آزاد شده تجمعی در زمان t ، k' ثابت سرعت و n ضریب نفوذ را بیان می‌کند. در این روش مقدار n تعیین کننده نوع مکانیزم می‌باشد.

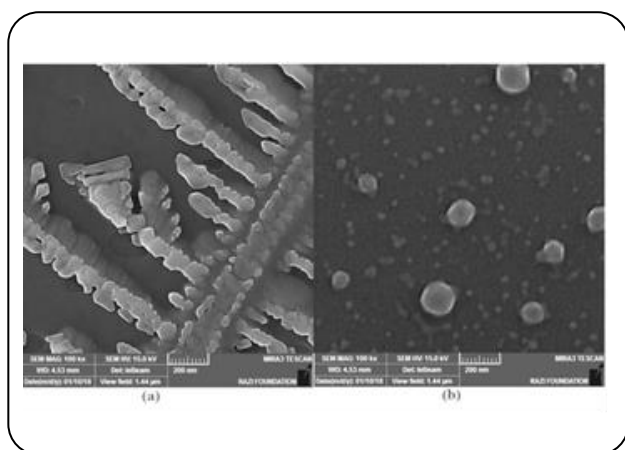
چنانچه مقدار n کوچک‌تر یا مساوی 0.45 باشد مکانیزم از نوع فیکتی بوده و چنانچه مقدار آن بین 0.45 و 0.89 باشد، مکانیزم غیر فیکتی است [۲۵].

نمودار مربوط در هر مدل ترسیم و با استفاده از معادله و محاسبه بهترین خط راست پارامترهای مربوط با استفاده از شیب خط و عرض از مبدا محاسبه شده است. به این ترتیب، مدل سینتیکی درجه صفر از طریق رسم درصد رهائش داروی تجمعی در مقابل زمان، مدل سینتیکی درجه اول با رسم لگاریتم درصد داروی باقیمانده

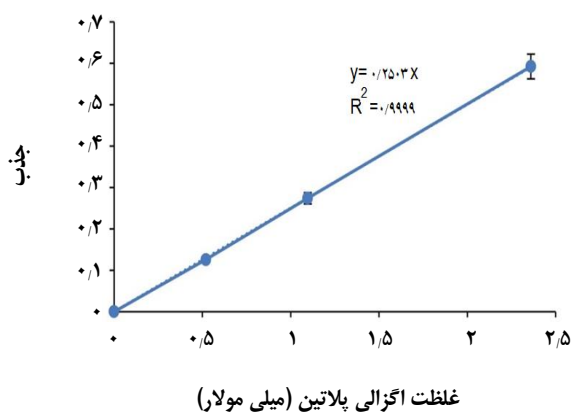
(۱) Finger print



شکل ۱- طیف سنجی فروسرخ (الف) اگزالی پلاتین، (ب) نانوذره پروتئینی و دارو (ج) ایمونوگلوبولین خالص.



شکل ۲- (a) تصویر SEM ایمونوگلوبولین خالص حل شده در محلول سدیم کلراید (b) نانوذره‌های ایمونوگلوبولین.



شکل ۳- منحنی واسنجی داروی اگزالی پلاتین.

تصویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای ایمونوگلوبولین خالص و نانوذره‌های ایمونوگلوبولین در شکل ۲ نشان داده شده است. با مقایسه دو تصویر تفاوت به روشنی دیده می‌شود و نیز نتیجه‌ها نشان داد که نانوذره‌های پروتئین در مرحله‌های سنتزی تهیه و دارای ساختار کروی شکل با میانگین اندازه ذره‌ها ۱۵۰ نانومتر است که این سایز ذره‌ها در توافق با اندازه ذره‌ها محاسبه شده با نرم افزار می‌باشد.

رسم منحنی واسنجی اگزالی پلاتین

منحنی واسنجی داروی اگزالی پلاتین برای به دست آوردن غلظت داروی رهایش یافته رسم شد (شکل ۳).

درصد بارگذاری و بازده کپسوله شدن دارو

با توجه به معادله‌های (۱) و (۲) و استفاده از نمودار واسنجی داروی اگزالی پلاتین، بازده کپسوله شدن و درصد بارگذاری دارو برای دو نسبت ۱ به ۱ و ۲ به ۱ از دارو به نانوذره‌های به دست آمده بازده کپسوله کردن در مورد ایمونوگلوبولین خالص ۱۰۰ درصد بوده و درصد بارگذاری دارو در این نمونه به دلیل حلالیت بالای ایمونوگلوبولین و عدم وجود ته نشینی در مرحله سانتریفیوژ محاسبه نشده است. جدول ۱ نتیجه‌های به دست آمده از بارگذاری دارو بر روی نانوذره‌ها را نشان می‌دهد. نتیجه‌ها بیانگر آن است که با افزایش غلظت نانوذره‌ها به دو برابر تغییر محسوسی در درصد بارگذاری دارو و بازده کپسوله شدن رخ نداده است که نشان می‌دهد داروی اگزالی پلاتین به طور کامل در نانوذره‌های پروتئینی بارگذاری شده و افزایش مقدار نانوذره‌های تأثیر چشمگیری در این فرآیند ندارد. این نتیجه‌ها همچنین نشان می‌دهد که بازده کپسوله شدن و درصد بارگذاری دارو مقدارهای دلخواه از نظر دارورسانی است.

بررسی میزان رهایش دارو

نانوذره‌های ایمونوگلوبولین دارای دارو درون محلول بافر فسفات غوطه‌ور شدند و رهایش آن‌ها به کمک دستگاه طیف سنجی جذبی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه رهایش دارو از هر نمونه از نانوذره‌ها تا ۱۴۰ ساعت ارزیابی و نتیجه‌ها در شکل ۴ نشان داده شده است. همان گونه که دیده می‌شود در نمونه ایمونوگلوبولین خالص رهایش انفجاری در ساعت‌های اولیه به روشنی دیده شده است که این موضوع در دو نمونه نانوذره پروتئینی و دارو کم‌تر شده و بالطبع رهایش دارو به طور کنترل شده‌ای انجام می‌شود.

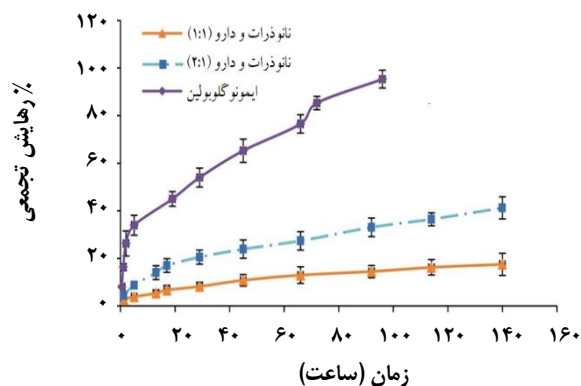
جدول ۱- بازده کپسوله کردن و درصد بارگذاری دارو.

نسبت دارو به نانوذره	۱ به ۲	۱ به ۱
بازده کپسوله کردن	۹۴±۰/۱۳	۹۶±۰/۳۵
درصد بارگذاری دارو	۱۱±۰/۴۳	۱۵±۰/۲

جدول ۲- ثابت سرعت و ضریب‌های رهایش دارو برای مدل‌های گوناگون.

نوع سیستم	مدل درجه صفر		مدل درجه اول		مدل هیگوچی		مدل کورسمایر-پپاس		
	k	R ²	k	R ²	k	R ²	k	n	R ²
ایمونوگلوبولین خالص + دارو	۱×۱۰ ^{-۴}	۰/۹۳	۲/۳×۱۰ ^{-۴}	۰/۷۰	۱/۱×۱۰ ^{-۲}	۰/۹۸	۲۳/۱۵	۰/۳۵	۰/۹۷
نانوذرات ایمونوگلوبولین + دارو (۱ به ۱)	۲×۱۰ ^{-۵}	۰/۹۵	۱/۸×۱۰ ^{-۶}	۰/۸۱	۱/۸×۱۰ ^{-۳}	۰/۹۹	۱۵/۸۵	۰/۳۶	۰/۹۴
ایمونوگلوبولین + دارو (۲ به ۱)	۴×۱۰ ^{-۵}	۰/۹۴	۲/۰۷×۱۰ ^{-۶}	۰/۷۲	۴/۱×۱۰ ^{-۳}	۰/۹۹	۸۷/۸۶	۰/۳۹	۰/۹۹

با توجه به نتیجه‌های به دست آمده که در جدول ۲ گردآوری شده است (نزدیکترین برازش به ۱) می‌توان نتیجه گرفت رهایش داروی اگزالی‌پلاتین از ایمونوگلوبولین خالص و نانوذره‌های پروتئینی با نسبت ۱ به ۱ از مدل هیگوچی و از نانوذره‌های پروتئینی با نسبت ۲ به ۱ تا حدود بیش‌تری از مدل کورسمایر - پپاس پیروی می‌کند [۲۳]. بنابراین، مکانیسم رهایش از انتشار فیکه که رهایش از ماتریس‌های پلیمری را توصیف می‌کند، پیروی می‌کند. این نتیجه با توجه به ضریب نفوذ کم‌تر از ۰/۴۵ که از مدل کورسمایر-پپاس به دست می‌آید نیز تایید می‌شود [۲۷].



شکل ۴- نمودار رهایش داروی اگزالی‌پلاتین از نانوذرات ایمونوگلوبولین.

نتیجه‌گیری

نسل سوم سامانه‌های دارورسانی به دلیل افزایش زمان رهایش دارو در طولانی مدت و حداقل سمیت بر پایه حامل‌های پروتئینی و پپتیدی می‌باشد و از این لحاظ سامانه‌های ایده‌آلی به نظر می‌رسند. سنتز و استفاده از زیست‌مواد در رهایش دارو این امکان را می‌دهد تا داروها با رهایش کنترل‌شده و سامانه پایدار به بافت هدف رسانده شود. نانوذره‌های پروتئینی به دلیل ویژگی‌های ذاتی مشخص از جمله پایداری فیزیولوژیکی، عدم سمیت، زیست‌تخریب‌پذیری، عدم سمیت فرآورده‌های به دست آمده از تخریب و عدم التهاب‌زایی و تحریک سامانه‌ی ایمنی، مناسب برای استفاده در طراحی سامانه‌های رهایش دارو است. به همین منظور در این پژوهش آنتی‌بادی پروتئینی که در بدن به عنوان یک عامل شناخته شده است، انتخاب و برای سنتز نانوذره‌ها با قابلیت بارگذاری دارو و

از سوی دیگر، زمان رهایش دارو با نانوذره شدن پروتئین حدود ۶۸ درصد افزایش یافته است که بیانگر حصول نتیجه رهایش آهسته داروی اگزالی‌پلاتین می‌باشد. از مقایسه رهایش دو نسبت نانوذره‌ها به دارو می‌توان نتیجه گرفت که در زمان یکسان مقدار درصد رهایش دارو در نسبت غلظتی ۲ به ۱ بیش‌تر بوده که علت آن به افزایش حضور دارو در سطح و رهایش سریع‌تر به دلیل افزایش سطح در دسترس به دلیل غلظت بیش‌تر نانوذره‌ها مربوط است.

تعیین مکانیسم رهایش دارو

برای بررسی مکانیسم رهایش دارو چهار مدل بیان شده که در بخش تجربی مورد ارزیابی قرار گرفتند و با توجه به رسم نمودارهای مربوط (ضمیمه ۱) و نتیجه‌های گردآوری شده در جدول ۱، مشخص شد که رهایش از مکانیسم انتشار فیکه پیروی می‌کند.

این نتیجه‌ها نشان داد که سامانه رهایش طراحی شده انعطاف‌پذیری زیادی در رهایش دارو در زمان‌های موردنظر دارد و می‌توان با تغییر نسبت‌های دارو و نانوذره به رهایش مطلوب دارو رسید. در مطالعه مکانیسم رهایش، دو سامانه ایمونوگلوبولین خالص و نسبت ۱ به ۱ نانوذره‌های پروتئینی و داروی اگزالی‌پلاتین از مدل هیگچی و نسبت ۲ به ۱ نانوذره‌های پروتئینی و دارو از مدل کورسمایر - پیاس پیروی می‌کند که در هر سه سامانه بیانگر انتشار از نوع فیکی است.

قدردانی

نویسندگان از پژوهشگاه مواد و انرژی به جهت تامین مالی این پژوهش با کد گرنت ۷۷۱۳۹۶۰۶۹ کمال تشکر را دارد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۱۶

رهایش آهسته آن استفاده شد. نانوذره‌های پروتئینی سنتز شده با روش‌های FTIR و SEM شناسایی و نشان داده شد که در اثر تهیه نانوذره‌های پیک‌های شاخص پروتئینی جابه‌جا شده ولی حذف نشده‌اند که نشان از عدم تغییر ساختاری چشمگیر ساختار پروتئینی است و مطالعه اندازه ذره‌ها نیز سایز ۱۵۰ نانومتری را نشان داد که اندازه دلخواهی برای دارورسانی به حساب می‌آید. همچنین شکل نانوذره‌های کروی بوده که این مورد از لحاظ فیزیولوژیکی در بدن دلخواه می‌باشد. مطالعه رهایش در سه سامانه پروتئین خالص، نانوذره‌های پروتئینی با نسبت ۱ به ۱ و ۲ به ۱ نسبت به دارو انجام و دیده شد که بازده کپسوله کردن دارو بالای ۹۰ درصد بوده و رهایش در سامانه اول انفجاری و در زمان کم‌تری انجام شده است ولی در نمونه دوم رهایش به مراتب کندتر از نمونه سوم است که نشان می‌دهد نسبت بهینه از نانوذره به پروتئین ۱ به ۱ است.

مراجع

- [1] Pathak Y., *Recent Developments in Nanoparticulate Drug Delivery Systems, Drug Delivery Nanoparticles Formulation and Characterization*, **2016**: 19-33 (2016).
- [2] Lohcharoenkal W., Wang L., Chen Y.-C., Rojanasaku Y., *Protein Nanoparticles as Drug Delivery Carriers for Cancer Therapy, Biomed Research International*, **2014**: 1-12 (2014).
- [3] Soppimath K.-S., Aminabhavi T.-J., Kulkarni A.-R., Rudzinski W.-E., *Biodegradable Polymeric Nanoparticles as Drug Delivery Devices, Journal of Controlled Release*, **70**: 1-20 (2001).
- [4] Salatin S., Jelvehgari M., Maleki-Dizaj S., Adibkia K., *A Sight on Protein-Based Nanoparticles as Drug/Gene Delivery Systems, Therapeutic Delivery*, **6**: 1017-1029 (2015).
- [5] Dobrovolskaia M.-A., Scott E.-M., *Immunological Properties of Engineered Nanomaterials, Nature nanotechnology*, **2**: 469-478 (2007).
- [6] Saif M.-W., Reardon J., *Management of Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy, Therapeutics and Clinical Risk Management*, **1**: 249-258 (2005).
- [7] Peer D., Karp J., Hong S., Farokhzad O., Margalit R., Langer R., *Nanocarriers as an Emerging Platform for Cancer Therapy, Nature Nanotechnology*, **2**: 751-760 (2007).
- [8] Rezaee F., Saeidifar M., Javaheri M., Sangpour P., *Prolonged Release Evaluation of an Injectable Anticancer Drug using Human Serum Albumin Nanoparticle, Biomacromolecular Journal*, **2**: 118-125 (2016).

[۹] نبی تیر معصومه؛ آقامیری سید فواد؛ طلایی خوزانی محمدرضا؛ 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: ۹۳ تا ۱۰۲ (۱۳۹۶).

- [10] Ma P., Mumper R.-J., [Paclitaxel Nano-Delivery Systems: A Comprehensive Review](#), *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, **18**: 1000164 (2013).
- [11] Amr Selim Abu L., Kiwada H., Ishida T., [Selective Delivery of Oxaliplatin to Tumor Tissue by Nanocarrier System Enhances Overall Therapeutic Efficacy of the Encapsulated Oxaliplatin](#), *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **37**: 206-211 (2014).
- [12] Nemati Kharat A., Tamaddoni Jahromi B., Mohammadifar E., Zareyi J., [Synthesis of Cis-Diammine \(1,1-cyclobutane dicarboxylate\) Platinum\(II\)](#), *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **36**: 39-43 (2017).
- [13] Pathak Y., Benita S., ["Antibody-mediated Drug Delivery Systems: Concepts, Technology, and Applications"](#), John Wiley & Sons, (2012).
- [14] Janeway Jr., Charles A., Travers P., Walport M., ["The Structure of a Typical Antibody Molecule"](#), Garland Science, New York (2001).
- [15] Wong H.-M., Wang J.-J., Wang C.-H., [In Vitro Sustained Release of Human Immunoglobulin G from Biodegradable Microspheres](#), *Industrial & Engineering Chemistry Research*. **40**: 933-948 (2001).
- [16] Wang J., Chua K.-M., Wang C.-H., [Stabilization and Encapsulation of Human Immunoglobulin G Into Biodegradable Microspheres](#), *Journal of Colloid And Interface Science*, **271**: 92-101 (2004).
- [17] Marquette S., Peerboom C., Yates A., Denis L., Langer I., Amighi K., Goole J., [Stability Study of Full-Length Antibody \(anti-TNF alpha\) Loaded PLGA Microspheres](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **470**: 41-50 (2014).
- [18] Elzoghby A.-O., Wael M.-S., Nazik A.-E., [Albumin-Based Nanoparticles as Potential Controlled Release Drug Delivery Systems](#), *Journal of Controlled Release*, **157**: 168-182 (2012).
- [19] Abbasi S., Arghya P., Prakash S., [Investigation of siRNA-loaded Polyethylenimine-Coated Human Serum Albumin Nanoparticle Complexes for the Treatment of Breast Cancer](#), *Cell Biochemistry and Biophysics*, **61**: 277-287 (2011).
- [20] Sebak S., Mirzaei M., Malhotra M., Kulamarva A., Prakash S., [Human Serum Albumin Nanoparticles as an Efficient Noscapine Drug Delivery System for Potential use in Breast Cancer: Preparation and in Vitro Analysis](#), *International Journal of Nanomedicine*, **5**: 525-532 (2010).
- [21] Langer K., Anhorn M., Steinhauser I., Dreis S., Celebi D., Schrickel N., Faust S., Vogel V., [Human Serum Albumin \(HSA\) Nanoparticles: Reproducibility of Preparation Process and Kinetics of Enzymatic Degradation](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **347**: 109-117 (2008).
- [22] Jahanban.-E A., Dastmalchi S., Davaran S., [A simple Improved Desolvation Method for the Rapid Preparation of Albumin Nanoparticles](#), *International Journal of Biological Macromolecules*, **91**: 703-709 (2016).

- [23] Guven A., Rusakova I.-A., Lewis M.-T., Wilson L.-J., [Cisplatin@ US-Tube Carbon Nanocapsules for Enhanced Chemotherapeutic Delivery](#), *Biomaterials*, **33**: 1455-1461 (2012).
- [24] Singhvi G., Singh M., [In-vitro Drug Release Characterization Models](#), *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **2**: 77-84 (2011).
- [25] Jahanshahi M., Najafpour Gh., Rahimnejad M., [Applying the Taguchi Method for Optimized Fabrication of Bovine Serum Albumin \(BSA\) Nanoparticles as Drug Delivery Vehicles](#), *African Journal of Biotechnology*, **7**: 362-367 (2008).
- [26] Suvakanta D., Murthy P.-N., Nath L., Chowdhury P., [Kinetic Modeling on Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems](#), *Acta Poloniae Pharmaceutica*, **67**: 217-23 (2010).
- [27] Kirubha S.-P., M. Anburajan., [Spectrometric Techniques for Diagnosis of Breast Cancer](#), *International Conference on Computer Communication and Informatics*, **2**: 1-4 (2012).