

مقاله پژوهشی

سنتر نانوذرات گرافن اکساید-کیتوسان جهت بررسی سامانه دارویی آهسته رهش ۵-فلوروئوراسیل در شبکه گلیسرول مونولئات

رضا احمدی آلهاشم^۱، شاداب شهسواری^{۲*}، سید علی وزیری یزدی^۱ و الهام منیری^۳

۱- گروه مهندسی شیمی و نفت، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه مهندسی شیمی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۳- گروه شیمی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۸/۰۳/۲۰، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۸/۰۷/۱۹، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۸/۰۸/۲۸

چکیده

امروزه در بیشتر روش‌هایی که برای درمان سرطان بکار گرفته می‌شود، انتقال موثر و کامل دارو صورت نمی‌گیرد و همچنین بافت‌های سالم بیش از بافت‌های تومور از بین می‌روند. برای رفع این مشکل از سامانه جدید و موثر نانو ساختارها که یکی از جدیدترین آن‌ها گرافن می‌باشد، استفاده می‌گردد. در این تحقیق به منظور تحقق بخشیدن به امر دارورسانی آهسته رهش از نانو کامپوزیت زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر کیتوسان-گرافن اکساید درون شبکه گلیسرول مونولئات برای حمل داروی ۵-فلوروئوراسیل استفاده شد. از میکروسکوپ نور پلاریزه جهت تایید فاز مکعبی در نسبت وزنی گلیسرول مونولئات-آب برابر با ۰/۴ استفاده شد. همچنین بررسی رهایش دارو در محیط معده و روده میزان ۸۸٪ در مدت زمان ۳۰ ساعت را نشان داد. محدوده pHهای ۱۰-۳ جهت تعیین pH بهینه برای جذب داروی ۵-فلوروئوراسیل مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین جذب در pH=۹ رخ داد سپس اثر زمان تماس نانوجاذب بر ظرفیت جذب دارو در زمان‌های مختلف ۲، ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ min بررسی و مشخص شد که فرآیند جذب سطحی پس از ۳۰ دقیقه به تعادل می‌رسد. در ادامه آنالیزهای پراش پرتو ایکس، وزن سنجی حرارتی جهت تایید مقاومت حرارتی تا ۶۰۰ °C و تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و طیف‌سنجی مادون قرمز جهت تایید ساختار اصلاح کوالانسی گرافن اکساید و جذب دارو بر سطح نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید انجام گرفت.

واژه‌های کلیدی: دارورسانی آهسته رهش، کیتوسان، گرافن اکساید، گلیسرول مونولئات، ۵-فلوروئوراسیل.

۱- مقدمه

اختلالات ژنتیکی است، به طوری که امروزه اصلی‌ترین عامل مرگ و میر در دنیا محسوب می‌شود و از این میان، سرطان سینه بالاترین میزان بروز را در زنان داراست [۲،۳] و از مهم‌ترین معضلات سلامتی زنان می‌باشد. سرطان پستان در

بیماری سرطان که با رشد و تکثیر خارج از کنترل سلول‌های بخشی از بدن بوجود می‌آید [۱] نتیجه عوامل محیطی و

* عهده‌دار مکاتبات: شاداب شهسواری

نشانی: گروه مهندسی شیمی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تلفن: ۰۲۱-۳۶۷۲۵۰۱۰، دورنگار: ۰۲۱-۳۶۷۲۴۶۷، پست الکترونیکی: sh.shahsavari@srbiau.ac.ir

کل جهان پنجمین علت مرگ ناشی از سرطان بعد از سرطان ریه، معده، کبد و کولون است [۴]. عوامل ژنتیکی و محیطی متعددی از قبیل سن، جنس، نژاد، عوامل خطر ژنتیکی، سابقه خانوادگی، دوره‌های قاعدگی، یائسگی، بارداری و شیردهی، مصرف الکل، سیگار و رژیم غذایی پرچرب در بروز سرطان سینه دخالت دارند که بسته به نوع، موقعیت، میزان پیشرفت و وسعت بیماری و وضعیت بیمار ترکیبی از روش‌های مختلف از جمله جراحی، رادیوتراپی، هورمون درمانی و شیمی درمانی جهت مبارزه با سرطان سینه مورد استفاده قرار می‌گیرد [۵،۶]. ۵- فلوروئوراسیل از داروهای بسیار موثر در درمان سرطان سینه به روش شیمی درمانی می‌باشد. این دارو در دراز مدت عوارض سوئی را در بیماران بوجود می‌آورد. از این رو استفاده از نانوحامل‌ها به منظور بهبود کارایی و الگوی سمیت این دارو امید بخش به نظر می‌رسد [۷].

هدف یک سیستم تحویل دارویی هدفمند، افزایش تحویل دارو در منطقه مورد نظر و کاهش اثر آن بر بافت‌های غیرهدف است به گونه‌ای که یک حالت پایدار را در خون ایجاد کند و یا در بافت هدف، سطحی از درمان را که موثرتر و غیرسمی‌تر باشد و مدت زمان طولانی‌تر را شامل شود را ایجاد کند که در این راستا، طراحی یک دوز مناسب دارویی، عنصر مهم در رسیدن به این هدف هستند [۸]. توسعه سیستم‌های جدید و مؤثر تحویل دارویی با توانایی بهبود مشخصات درمانی و اثربخشی عوامل درمانی یکی از مسائل کلیدی مطرح شده در پزشکی مدرن است. پیشرفت در علوم و فناوری نانو، امکان سنتز نانومواد جدید، منجر به توسعه تعدادی از سیستم‌های دارورسانی جدید شده است [۹،۱۰]. کاربرد بیوشیمیایی مواد مبتنی بر گرافن، از جمله تحویل مواد دارویی، به سرعت در چند سال گذشته افزایش یافته است. در چند سال گذشته، تحقیقات درباره گرافن و اکسید گرافن در کاربردهای زیست پزشکی، گسترده و چشمگیر بوده است، که این ناشی از خواص منحصر بفرد ساختار دو بعدی مسطح، سطح بزرگ شیمیایی، پایداری مکانیکی و شیمیایی بالا، سمیت سلولی پایین و زیست‌سازگاری خوب است. این

خواص موجب رویکرد امیدوارکننده به سوی طراحی سیستم‌های دارورسانی پیشرفته و ارائه طیف جدیدی از درمان بر مبنای گرافن شده است [۱۱]. حامل‌های درمانی مختلفی در مقیاس نانو برای استفاده بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرند. نانوحامل‌ها باعث افزایش حلالیت دارو، کنترل رهایش دارو، کاهش عوارض جانبی و بهبود توزیع زیستی دارو می‌شوند. در میان این نانوحامل‌ها، دارورسانی مبتنی بر چربی (لیپید)، گلیسرول مونوئولئات است که یکی از چربی‌های آملی فلیک مورد استفاده در تشکیل فرمولاسیون‌ها مختلف کریستال‌های مایع مواد دارویی می‌باشد [۱۲]. گلیسرول مونوئولئات یک ماده چربی دوست بوده و تقریباً در یک فاز آبی نامحلول است و حلالیت آن در آب در حدود 10^{-6} می‌باشد. هنگامی که گلیسرول مونوئولئات در تماس با محیط‌های آبی مانند آب و مایعات بیولوژیک قرار می‌گیرد انواع مختلف فاز مایع کریستالی مانند فاز مکعبی، فاز چند لایه و فاز شش ضلعی متورم می‌کند. تشکیل فاز مایع کریستالی عمدتاً وابسته به مقدار آب سیستم و درجه حرارت است [۱۳].

در پژوهشی انجام شده در سال ۲۰۰۳ (کیران کومار و همکاران) نشان دادند که ماتریس گلیسرول مونوئولئات یک حامل مناسب برای داروهای قطبی و همچنین غیرقطبی است. در این بررسی از کلرفنیرامین مولیت و دیازپام به عنوان دارو مدل استفاده شد. در این بررسی پلی اتیلن گلاکول رهایش را تا غلظت مشخصی افزایش داده و سپس پس از آن کاهش می‌یابد. رهش دارو نیز به صورت خطی با غلظت اسید استئاریک کاهش یافته است. بنابراین انتخاب مواد جانبی مناسب بسته به قطب دارو، می‌تواند به نحوه آزادسازی و شناوری از ماتریس گلیسرول مونوئولئات کمک کند [۱۴]. در سال ۲۰۰۹ (تریکلر و همکاران) از نانو ساختارها کیتوزان و گلیسرول مونوئولئات حاوی جمسیتابین برای درمان سرطان لوزالمعده استفاده کردند. هدفی که در این مطالعه دنبال شده است افزایش تجمع بافت سلولی جمسیتابین با نانو ساختارهای کیتوزان/گلیسرول مونوئولئات و افزایش قابل توجهی در

۲-۲- سنتز نانوگرافن اکساید

برای سنتز گرافن اکساید به روش هامرز از گرافیت ورقه‌ای استفاده شد. در این روش ابتدا ۲ گرم گرافیت و ۱ گرم سدیم نیترات و ۹۲ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۹۶٪ باهم مخلوط می‌شوند. سپس ظرف درون حمام آب یخ در صفر درجه قرار داده می‌شود. در ادامه ۶ گرم پتاسیم پرمنگنات به سوسپانسیون اضافه می‌گردد (باید دقت شود که این مقدار بطور آهسته اضافه شود که دمای سوسپانسیون از ۲۰ °C بالاتر نرود) [۱۷، ۱۸]. بعد از اضافه کردن پتاسیم پرمنگنات بطور کامل، حمام آب یخ را برداشته و دما را در حدود 35 ± 3 برای مدت ۳۰ دقیقه نگه داشته می‌شود و مخلوط به شکل خمیری قهوه‌ای مایل به خاکستری در می‌آید. بعد از ۳۰ دقیقه خمیر بالا به ۱۹۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آهستگی اضافه می‌گردد تا دمای محلول را تا ۹۸ °C بالا رود، حال یک سوسپانسیون قهوه‌ای رنگ در دمای ۹۸ °C تشکیل شده است. این سوسپانسیون به مدت ۱۵ دقیقه در همین حالت قرار داده می‌شود، سپس باز هم این سوسپانسیون توسط ۲۸۰ میلی‌لیتر آب حاوی ۳۰٪ وزنی آب اکسیژنه رقیق می‌شود تا پتاسیم پرمنگنات و منگنز دی‌اکسیدهای باقیمانده از بین برود، با افزایش مقدار اثر آب اکسیژنه رنگ سوسپانسیون به سمت زرد می‌رود، سپس این سوسپانسیون را فیلتر کرده و پودری زرد رنگ مایل به قهوه‌ای بدست می‌آید. سپس با محلول آبی اسید کلریدریک (۱:۱۰) برای حذف یون‌های فلزی و سپس چندین بار با آب دیونیزه برای حذف اسید شستشو داده شد. سپس برای رسیدن از گرافیت اکساید به گرافن اکساید، از فرآیند تابش امواج فراصوت در حدود ۲۰ تا ۳۰ دقیقه درون آب می‌توان به راحتی به گرافن اکساید رسید.

۲-۳- سنتز نانوذرات گرافن اکساید اصلاح شده با کیتوسان

ابتدا محلول ۲٪ حجمی - حجمی از استیک اسید تهیه شد. بدین ترتیب که ۱ میلی‌لیتر استیک اسید با نمونه گیر جدا و در

مرگ سلولی از سلول‌های سرطان لوزالمعده انسان در شرایط آزمایشگاهی است [۱۵]. از جمله تحقیق انجام شده برای بررسی رهایش کنترل شده دارو ۵-فلورویوراسیل در سال ۲۰۱۴ (جیا وانگ و همکاران) جهت پیدا کردن مواد کامپوزیت جدید، از گلوکومانان کونیاکو/آلژینات سدیم حساس به pH و گرافن اکساید جهت تشکیل هیدروژل برای رهایش کنترل شده داروی ۵-فلورویوراسیل مورد استفاده قرار دادند [۱۶].

هدف از طراحی این سامانه‌ها کاهش تکرار مصرف، افزایش اثر دارو و کاهش عوارض ناشی از آن است. پلیمرها و لیپیدها به عنوان سامانه‌های دارورسانی به کار می‌روند. هیدروژل‌ها پلیمرهای شبکه‌ای هستند که در دارورسانی استفاده می‌شوند. منافذ موجود در هیدروژل‌ها باعث می‌شود تا بتوان دارو را به راحتی درون آنها قرار داد و به عنوان یک سامانه دارورسانی بکار برد. هیدروژل‌های استفاده شده برای سامانه‌های دارورسانی، به شکل قطعه میکروذرات، نانوذرات، پوشش یا فیلم به کار می‌روند [۱۷].

۲- فعالیت‌های تجربی

۲-۱- مواد

برای سنتز گرافن اکساید از گرافیت ورقه‌ای شرکت Graphit GmbH با مش کمتر از ۳۲۰ و خلوص ۹۹/۹۵٪ و سدیم نیترات، سولفوریک اسید با خلوص ۹۶٪، پتاسیم پرمنگنات، کلریدریک اسید و آب اکسیژنه از شرکت مرک آلمان تهیه شد. برای عامل دار کردن گرافن اکساید با استفاده از کیتوسان و گلو تار آلدئید (۵۰٪ محلول در آب) شرکت سیگما آلمان و استیک اسید شرکت مرک آلمان استفاده شد. برای تهیه بافر فسفات از سدیم هیدروکسید، استیک اسید، و بوریک اسید، فسفریک اسید مربوط به شرکت مرک آلمان استفاده شد. همچنین داروی ضد سرطان ۵-فلورویوراسیل ساخت شرکت سیگما آلمان و گلیسرول مونولئات ساخت شرکت Danisco Cultor دانمارک خریداری شد.

pH_{PZC} (نقطه ای از pH که در آن مجموع بارهای الکتریکی صفر است) مورد بررسی گرفت.

۲-۵- منحنی کالیبراسیون دارو

برای رسم منحنی کالیبراسیون محلول‌های با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد و جذب تمام محلول‌های رقیق در محدوده ۲۰۰-۸۰۰ nm با دستگاه اسپکتوفتومتر بدست آمد. طول موج بیشینه جذب بدست آمد و منحنی کالیبراسیون با بدست آوردن میزان جذب در غلظت‌های مختلف رسم شد.

۲-۶- تنظیم pH

جهت تنظیم pH، ۲۵ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ ppm از دارو را تهیه کرده که حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر بافر می‌باشد. برای این کار ۱ میلی‌لیتر از محلول ذخیره اولیه ۵۰۰ ppm و ۲/۵ میلی‌لیتر بافر با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده می‌شود. این عمل برای نمونه‌های با pH در محدوده ۳ تا ۱۰ تکرار شد. سپس ۱۵ میلی‌لیتر برای محلول استاندارد و ۱۰ میلی‌لیتر باقیمانده به عنوان نمونه جدا شده و ۰/۰۰۵ گرم از نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان (جاذب) به محلول نمونه اضافه شده و به مدت ۱ ساعت مخلوط شد. سپس جاذب را با استفاده از سانتریفیوژ و فیلتر سرسرنگی جداسازی کرده و میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در λ_{max} بررسی شد.

۲-۷- تعیین pH_{PZC}

برای تعیین pH_{PZC} ، ابتدا محلول‌های نمک طعام ۰/۰۱ مولار (۰/۵۸۵ گرم نمک طعام در یک لیتر)، محلول ۰/۱ مولار اسید هیدروکلریدریک و محلول سود ۰/۱ مولار تهیه شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر محلول نمک طعام با pH‌های ۲/۵-۱۰ را تهیه شد به این صورت که pH‌های کمتر از محلول نمک طعام با استفاده از محلول هیدروکلریدریک اسید و pH‌های بالای محلول نمک طعام با استفاده از محلول سود تنظیم شد.

یک بالون ۵۰ میلی‌لیتر با آب دیونیزه به حجم رسانده شد. سپس ۰/۴ گرم پودر کیتوسان به تدریج به ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۲٪ حجمی-حجمی استیک اسید افزوده و انحلال انجام شد تا یک محلول ۲٪ وزنی-حجمی از کیتوسان به دست آید. سپس محلول ۲۴ ساعت در دمای اتاق با قرار دادن مگنت داخل ظرف هم زده شد. پس از ۲۴ ساعت کیتوسان حل شده در استیک اسید یک ساعت در حمام فراصوت با دمای ۲۵ °C قرار گرفت سپس ۳ میلی‌لیتر گلو تار آلدنید (۵۰٪ وزنی در آب) به عنوان عامل ایجاد کننده اتصال عرضی به محلول کیتوسان آرام آرام افزوده و به مدت نیم ساعت همزدن ادامه یافت، ۰/۳ گرم گرافن اکسید به مخلوط اضافه و به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۵۰ °C بطور مداوم با قرار دادن مگنت داخل ظرف واکنش هم زده شد. با اندازه‌گیری pH محلول حدود ۳/۵ اندازه‌گیری شد. سپس محلول سود ۰/۱ مولار (در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب ۰/۴ گرم سود) تهیه شد و آرام آرام سود را به محلول اضافه نموده تا pH حدود ۹/۵ شد و ۶۰ دقیقه در دمای ۸۰ °C در حمام آب قرار گرفت.

۲-۴- بارگذاری دارو بر روی نانوذرات گرافن اکساید-کیتوسان

در این تحقیق، پس تعیین طول موج بیشینه‌ی جذب (λ_{max}) داروی ۵-فلوروئوراسیل جهت بررسی فرآیند جذب سطحی دارو بر سطح نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان متغیرهای pH، زمان تماس و غلظت‌های اولیه دارو مورد بررسی قرار گرفت، در ابتدا جهت بررسی تاثیر pH بر فرآیند جذب دارو بر سطح نانو کامپوزیت فرآیند جذب در pH‌های ۱۰-۳ و در λ_{max} بررسی شد و پس از تعیین pH=۹ به عنوان pH بهینه، سینتیک جذب جهت بررسی زمان رسیدن نانو جاذب به تعادل جذب و ایزوترم جذب جهت بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف دارو در فرآیند جذب در pH بهینه و λ_{max} مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای بررسی برهمکنش الکترواستاتیک میان جاذب و جذب شونده پارامتر

۲-۱۰- وارد کردن نانوذره حاوی دارو در شبکه گلیسرول مونولئات

یک گرم گلیسرول مونولئات با ۳ درصد وزنی-وزنی از نانوذره بهینه را بوسیله ورتکس مخلوط کرده سپس آب در سه نسبت ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ به نمونه آماده شده اضافه شد و توسط ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط گردید. در ادامه مخلوط بدست آمده برای مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق برای رسیدن به تعادل نگهداری شد و سپس نوع فاز تشکیل شده توسط میکروسکوپ نوری پلاریزه بررسی گردید.

۲-۱۱- مطالعه رهایش دارو

جهت بررسی رهایش دارو در محیط معده و روده ابتدا مرحله جذب دارو بر سطح نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید صورت گرفت سپس مقدار رهایش داروی جذب شده از سطح نانو کامپوزیت در شبکه گلیسرول مونولئات و بدون آن در محیط روده و معده مورد بررسی قرار گرفت.

در مرحله جذب، ابتدا ۰/۲ گرم از جاذب کیتوسان-گرافن را به ۵۰ میلی لیتر از این محلول اضافه کرده و به مدت ۱ ساعت شیک شد سپس جاذب را با استفاده از سانتریفیوژ و فیلتر سرسرنگی جداسازی کرده و میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در λ_{max} بررسی شد.

سپس در مرحله واجذب، جاذب جدا شده در مرحله قبل داخل کیسه دیالیز ۱۲ کیلو دالتون همراه با ۲ میلی لیتر بافر معده (pH=۱/۲) قرار گرفته و مجموعه داخل ۵۰ میلی لیتر بافر و داخل بن ماری در دمای 37°C قرار داده شد. سپس در فواصل زمانی مشخص ۱ میلی لیتر از بافر برداشته و میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی شد. پس از ۳۰ دقیقه، کیسه دیالیز به درون ۵۰ میلی لیتر بافر روده (pH=۷/۴) منتقل شد و نمونه گیری انجام شده و بررسی جذب انجام شد. همچنین این مراحل برای زمانی که نانو جاذب به همراه دارو به صورت بهینه درون شبکه گلیسرول مونولئات وارد شد نیز انجام شد نیز انجام گرفت.

سپس ۰/۰۰۵ گرم جاذب نانو گرافن اکساید-کیتوسان به هر محلول اضافه شده و در دمای 20°C و به مدت ۲۴ ساعت مخلوط شده و pH نهایی خوانده شد.

۲-۸- اثر زمان تماس (سینتیک جذب)

برای تعیین نحوه جذب دارو توسط جاذب در زمان های مختلف ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه، ابتدا ۲۵۰ میلی لیتر محلول ۲۰ ppm از محلول ذخیره اولیه تهیه شد. به این منظور ۲۵ میلی لیتر از محلول بافر دارای pH بهینه و ۱۰ میلی لیتر از محلول ذخیره اولیه در بالن با آب مقطر به حجم ۲۵۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۱۰ میلی لیتر از محلول فوق و ۰/۰۰۵ گرم جاذب در داخل ۱۱ ارلن بطور جداگانه اضافه شده و در داخل شیکر با دور همزن ۳۰۰ rpm در دمای 20°C و در زمان های مختلف قرار گرفت. سپس جاذب با استفاده از سانتریفیوژ و فیلتر سرسرنگی جدا شد و میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در بیشترین طول موج بررسی شد.

۲-۹- اثر غلظت اولیه دارو (ایزوترم جذب)

برای بررسی تاثیر غلظت اولیه دارو، ۲۵ میلی لیتر محلول هایی با غلظت های مختلف ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ ppm از محلول ذخیره اولیه تهیه شد. بطور مثال برای تهیه ۲۵ میلی لیتر محلول ۲ ppm از محلول ذخیره اولیه، ۰/۱ میلی لیتر از محلول ذخیره اولیه با ۲/۵ میلی لیتر بافر بهینه به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد و همچنین برای تهیه سایر غلظت ها نیز به همین صورت انجام شد. از محلول های تهیه شده ۱۵ میلی لیتر به عنوان محلول استاندارد جدا شده و به ۱۰ میلی لیتر محلول باقیمانده ۰/۰۰۵ گرم جاذب کیتوسان-گرافن اکساید اضافه کرده و به مدت یک ساعت همزده شد. سپس جاذب با استفاده از سانتریفیوژ و فیلتر سرسرنگی جداسازی شد و میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در λ_{max} بررسی شد.

۲-۱۲- تعیین ویژگی های نانوجاذب بهینه

به منظور سنجش شکل سطحی نانوذرات بهینه از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل Sigma 500-VP 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 پوشش دهی شد. در نتیجه تصویر نانوذرات بوسیله ردیابی الکترون های ثانویه ساطع شده از نمونه با ولتاژ ۱۵ kW گزارش شد.

به منظور بررسی ساختار نانوذرات از طیف سنجی مادون قرمز مدل Nexus870 ساخت کشور آمریکا استفاده شد بدین ترتیب که قرص مورد استفاده در دستگاه بوسیله مخلوط کردن نانوذره حاوی دارو با بروماید پتاسیم در فشار ۵۰۰ اتمسفر آماده و اسکن شد و در ادامه طیف بدست آمده با طیف پلیمر و اسانس به تنهایی مقایسه شد.

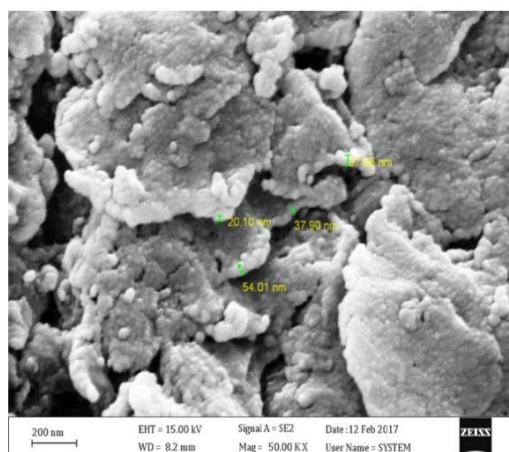
برای پیش بینی پایداری حرارتی نانوذرات بدست آمده از دستگاه آنالیز وزن سنجی حرارتی مدل Toledo ساخت کشور سوئیس استفاده شد. بر این اساس نمونه در گستره دمایی ۲۵ تا ۷۰۰ °C با سرعت ۲۰ بر دقیقه تحت اتمسفر نیتروژن قرار گرفت و تغییرات فیزیکی ماده بصورت تابعی از دما رسم شد.

جهت تجزیه تحلیل ساختار و خصوصیات شیمیایی نمونه از طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس استفاده شد. در این آنالیز امکان شناسایی عناصر از بازه کربن تا اورانیوم میسر می شود.

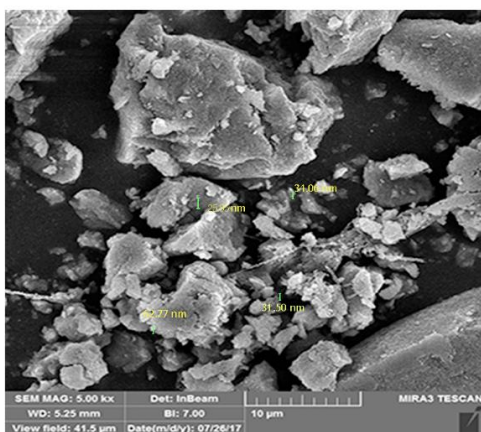
جهت تشخیص نوع فاز تشکیل شده در شبکه ماتریس گلیسرول مونولئات از میکروسکوپ نوری پلاریزه مدل CETT ساخت کشور چین استفاده شد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی، (۱) نانوذرات کیتوسان-گرافن اکساید و (۲) نانوذرات کیتوسان-گرافن اکساید حاوی دارو در شبکه گلیسرول مونولئات را نشان می دهد. تجزیه و تحلیل عکس بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی برای فرمولاسیون بهینه نشان می دهد که نانوذرات دارای یک ساختار کروی بوده و در ابعاد نانو می باشند (شکل ۱-۱).

(۱)



(۲)



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی، (۱) نانوذرات کیتوسان-گرافن اکساید و (۲) نانوذرات کیتوسان-گرافن اکساید حاوی دارو در شبکه گلیسرول مونولئات.

همچنین با توجه به تصاویر اندازه نانوذرات کیتوسان-گرافن اکساید در محدود ۲۰-۵۴ nm و اندازه نانوذرات کیتوسان-گرافن اکساید حاوی دارو و درون شبکه گلیسرول مونولئات در محدوده ۲۵-۶۲ nm می باشد. از آنجائیکه هدف این

۳- نتایج و بحث

۱-۳- میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM)

جهت مطالعه ویژگی های سطح نانوجاذب سنتز شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. شکل ۱ تصویر

طیف‌های موجود در 1244 cm^{-1} و 1345 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات C-F و C-N موجود در ساختار دارو می‌باشد. اما در مورد طیف نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان (شکل ۲-۴)، پیک در نقطه $1733/77 \text{ cm}^{-1}$ (گروه کربوکسیل) به علت واکنش گروه‌های کربوکسیل با GLA از گرافن اکساید در طول آماده‌سازی کامپوزیت ناپدید شد. با توجه به طیف نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان، می‌توان این نتیجه را گرفت که گروه‌های کربوکسیل نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان با گروه‌های NH_2 -کیتوسان برهمکنش می‌کنند تا آمیدها (طیف 1643 cm^{-1}) و گروه‌های کربوکسیل (طیف 1400 cm^{-1}) را تشکیل دهند. حمله هسته دوستی آمین به گروه‌های اپوکسی گرافن اکساید نیز موجب تشکیل آمین می‌شود. افزایش شدت پیک در 1550 cm^{-1} در طیف نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان بیانگر این موضوع می‌باشد. نتایج مشابه در تحقیقات دیگر نیز تایید این موضوع می‌باشند [۱۳]. بر اثر جذب دارو بر سطح نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان (شکل ۲-۵) پیک‌هایی در محدوده 1037 و 1651 cm^{-1} که به ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی C-N و C=N ظاهر شده است. پس از وارد شدن نانو کامپوزیت حاوی دارو به شبکه گلیسرول مونولئات پیک در 1734 cm^{-1} که مربوط به گروه استری (C=O) گلیسرول مونولئات می‌باشد که در طیف بدون آن وجود ندارد (شکل ۲-۶).

۳-۳- آنالیز وزن‌سنجی حرارتی (TGA)

روش وزن‌سنجی حرارتی ساده‌ترین روش آنالیز حرارتی است که اساس آن بر اندازه‌گیری وزن نمونه در هنگام گرمایش استوار است. شکل ۳ منحنی وزن‌سنجی حرارتی کیتوسان، گرافن اکساید و نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید همراه با دارو را بر اساس کاهش وزن در مقابل حرارت نشان می‌دهد.

تحقیق سنتر نانوذرات می‌باشد، نتایج بسیار قابل قبولی در ابعاد نانویی و کروی بدست آمده است. در تحقیق مشابهی، تصاویر میکروسکوپی کیتوسان مغناطیسی که با روش هم‌رسوبی سنتر شده، حاکی از اندازه ذرات در مقیاس نانو قبل و پس از پوشش دوم بود [۱۹].

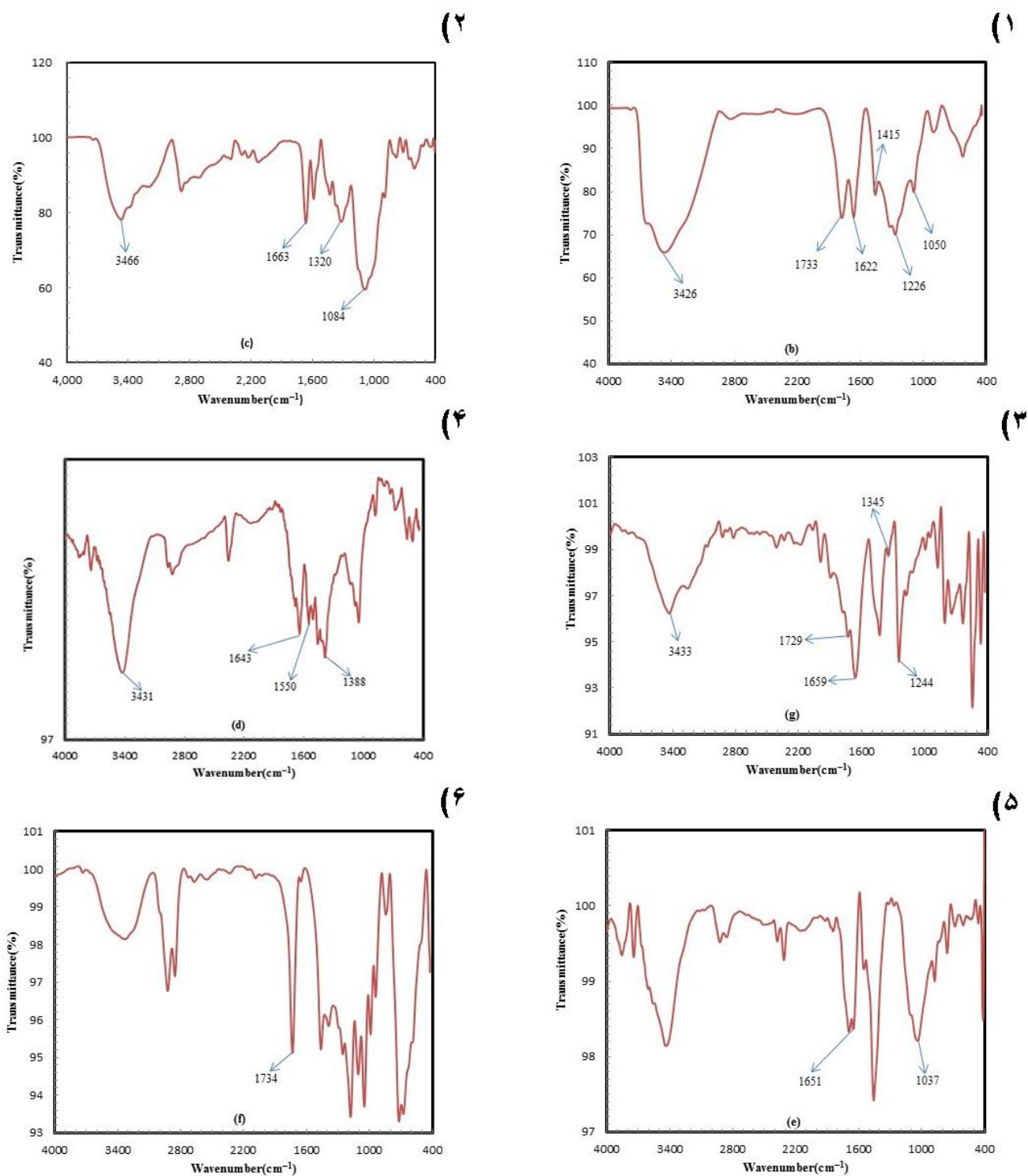
۲-۳- طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR)

طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR) گرافن اکساید، کیتوسان، ۵-فلوروپوراسیل، نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید، نانو کامپوزیت همراه با دارو و همچنین نانو کامپوزیت بارگذاری شده با دارو درون شبکه گلیسرول مونولئات در شکل ۲ به تصویر کشیده شده‌اند.

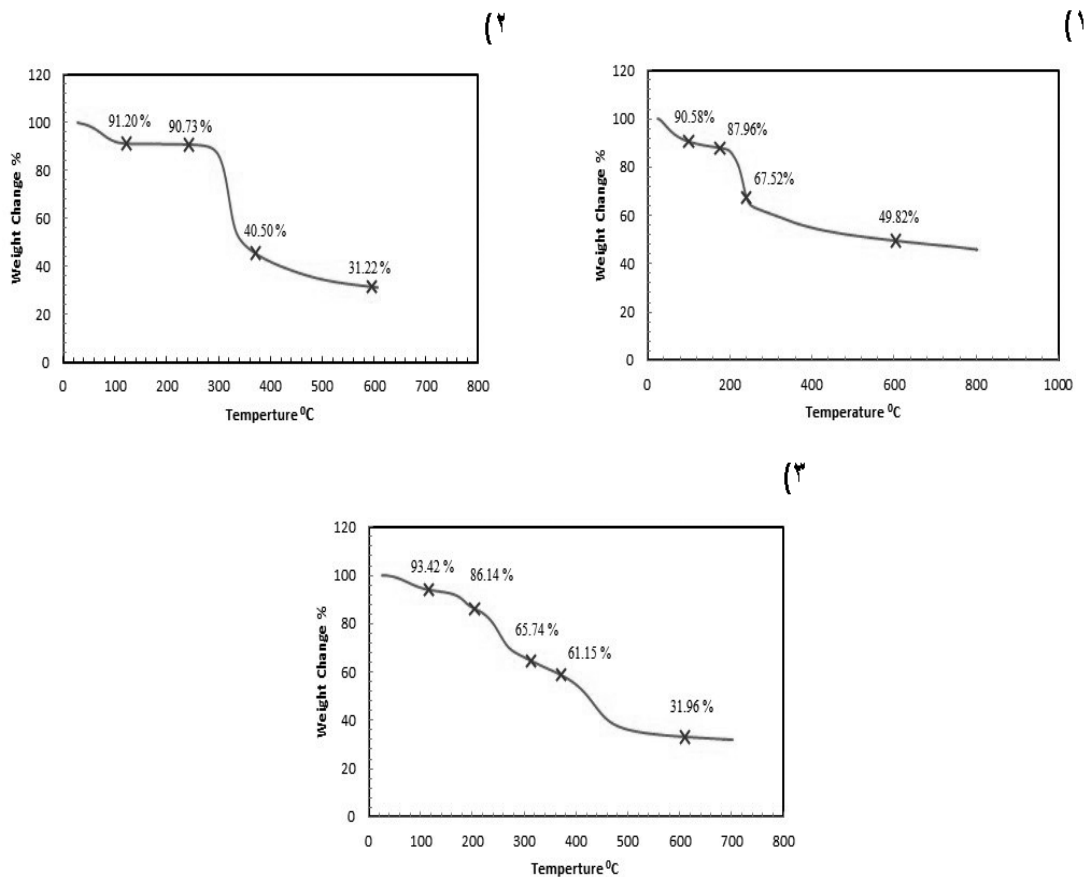
با توجه به شکل (۱-۲)، گرافن اکساید دارای چند پیک در نواحی زیر است که گروه‌های عاملی گرافن اکساید را مشخص می‌کند: پیک پهن در ناحیه $3426/95 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به گروه‌های هیدروکسیل (OH) بوده، همچنین پیک ناحیه $1226/96 \text{ cm}^{-1}$ و $105/28 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به گروه‌های C-O شامل گروه‌های اپوکسی، پیک‌های ناحیه $1622/18 \text{ cm}^{-1}$ و $1733/77 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی آروماتیک گروه‌های (C=C) و (C=O) نشان‌دهنده ارتعاشات کششی گروه کربوکسیلیک اسید می‌باشند که در مجموع ساختار اکسید گرافن را تایید می‌کند نتایج به‌دست آمده از طیف‌سنجی مادون قرمز با گزارشات مربوط به طیف اکسید گرافن به روش هامرز با تحقیقات دیگر تطابق دارد [۲۰].

الگوی کیتوسان (شکل ۲-۲) دارای یک پیک قوی و پهن در 3466 cm^{-1} است که به ارتعاشات کششی O-H نسبت داده می‌شود. همچنین پیک بدست آمده در 1663 cm^{-1} مربوط به آمید نوع ۱ نسبت داده شده به (C=O) از واحدهای استیله گروه (CONH₂) و پیک در اطراف 1320 ، 1084 cm^{-1} مربوط به آمید نوع ۳ (C-O-C) می‌باشند.

طیف مادون قرمز داروی ۵-فلوروپوراسیل (شکل ۲-۳)



شکل ۲: طیف‌سنجی مادون قرمز، (۱) گرافن اکساید، (۲) کیتوسان، (۳) ۵-فلوروپوراسیل، (۴) نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید، (۵) نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید همراه با دارو و (۶) نانوکامپوزیت بارگذاری شده با دارو درون شبکه گلیسرول مونولئات.



شکل ۳: آنالیز وزن‌سنجی حرارتی، (۱) گرافن اکساید، (۲) کیتوسان و (۲) نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید همراه با دارو.

این نتایج نشان می‌دهد که کیتوسان به خوبی سطح گرافن اکساید را فرا گرفته است و ذرات سنتز شده در ابعاد نانو نسبت به ذرات خالص در مقابل افزایش درجه حرارت کاهش وزن بیشتری از خود نشان داده است.

این رفتار به دلیل محدودیت ابعاد در مقیاس نانو می‌باشد که نوارهای انرژی به صورت گسسته در می‌آید و هر چه محدودیت بیشتر باشد (ابعاد کوچک‌تر باشد)، فاصله ترازهای انرژی از هم بیشتر می‌شود. در واقع یکی از پدیده‌های حرارتی ناشی از کوچک شدن مواد، ناپایداری حرارتی نانوذرات است. گرما دارای انرژی است، که میزان انرژی آن متناسب با دمای محیط است. این انرژی برابر با $K_B T$ است. در این رابطه K_B ثابت بولتزمن و برابر با یک مقدار ثابت و T دما و بر حسب کلونین است.

با توجه به شکل ۱-۳، گرافن اکساید در برابر حرارت ناپایدار است و شروع به از دست دادن وزن خود بر اثر حرارت زیر 100°C به دلیل تبخیر آب ذخیره شده که در ساختار π انباشته شده است می‌کند، به طوری که ۱۰٪ وزن خود را از دست می‌دهد.

سپس از دمای 180°C تا 230°C بطور ناگهانی با کاهش وزن سریع ۲۰٪ روبرو می‌شود که ناشی از تجزیه گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار بر سطح گرافن اکساید می‌باشد و در انتها، در دمای 600°C به علت اکسید شدن گرافن اکساید رخ می‌دهد. داده‌های آنالیز وزن‌سنجی حرارتی نانوکامپوزیت سنتز شده (شکل ۳-۳) نشان می‌دهد که کاهش جرم نهایی در 600°C ، ۶۹٪ بوده است، در صورتی که جرم گرافن اکساید و کیتوسان خالص به ترتیب، ۵۰٪ و ۶۹٪ کم می‌شود.

(شکل ۵-۱) مقادیر $61/3\%$ وزنی کربن، $38/7\%$ وزنی اکسیژن و طیف مربوط به نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان (شکل ۵-۲) مقادیر $50/5\%$ وزنی کربن، $21/6\%$ وزنی اکسیژن و $27/9\%$ نیتروژن را نشان می‌دهد. همچنین طیف مربوط به نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید همراه با دارو (شکل ۳-۵)، نشان‌دهنده مقادیر $43/0\%$ وزنی کربن، $22/6\%$ وزنی اکسیژن و $32/1\%$ وزنی نیتروژن و $2/4\%$ وزنی فلونور ناشی از داروی ۵-فلوروپوراسیل جذب شده بر سطح نانوجاذب گرافن اکساید-کیتوسان می‌باشد.

۳-۶- میکروسکوپ نوری پلاریزه

شکل ۶ ساختار فازهای لایه‌ای، لایه‌ای-مکعبی و فاز مکعبی را در زیر میکروسکوپ پلاریزه نشان می‌دهد. همانطوری که در شکل مشاهده می‌شود، در نمونه‌های با نسبت وزنی آب به گلیسرول مونولئات $0/2$ به 1 ، فاز لایه‌ای (دارای ساختار موزائیکی مانند، شکل ۶-۱) و در نمونه‌هایی با نسبت وزنی $0/3$ به 1 هر دو فاز لایه‌ای و مکعبی (شکل ۶-۲) ایجاد شد که منطقه انتقال را توصیف می‌کند. همچنین فاز مکعبی در نمونه دارای نسبت وزنی $0/4$ به 1 شکل گرفته است (شکل ۳-۶). بر طبق خاصیت ایزوتروپیک، فاز مکعبی بوسیله پس زمینه تیره مشخص شد زیرا نور پلاریزه را از خود عبور می‌دهد و پس زمینه تیره دیده می‌شود. فاز مکعبی به لحاظ ترمودینامیکی پایدار و همچنین ویسکوزیته بالا می‌تواند یک سیستم آهسته رهش برای آزادسازی داروها فراهم کند. نتایج مشابه نیز در پژوهش قبلی انجام شده حاصل شده است [۲۲].

۳-۷- تعیین pH بهینه

شکل ۷ تاثیر pH بر ظرفیت جذب و درصد حذف داروی ۵-فلوروپوراسیل را توسط نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان در دمای 20°C نشان می‌دهد. همانطوری که مشاهده می‌شود، بیشترین جذب و همچنین بیشترین درصد حذف دارو در $\text{pH}=9$ رخ داده است که pH بهینه می‌باشد.

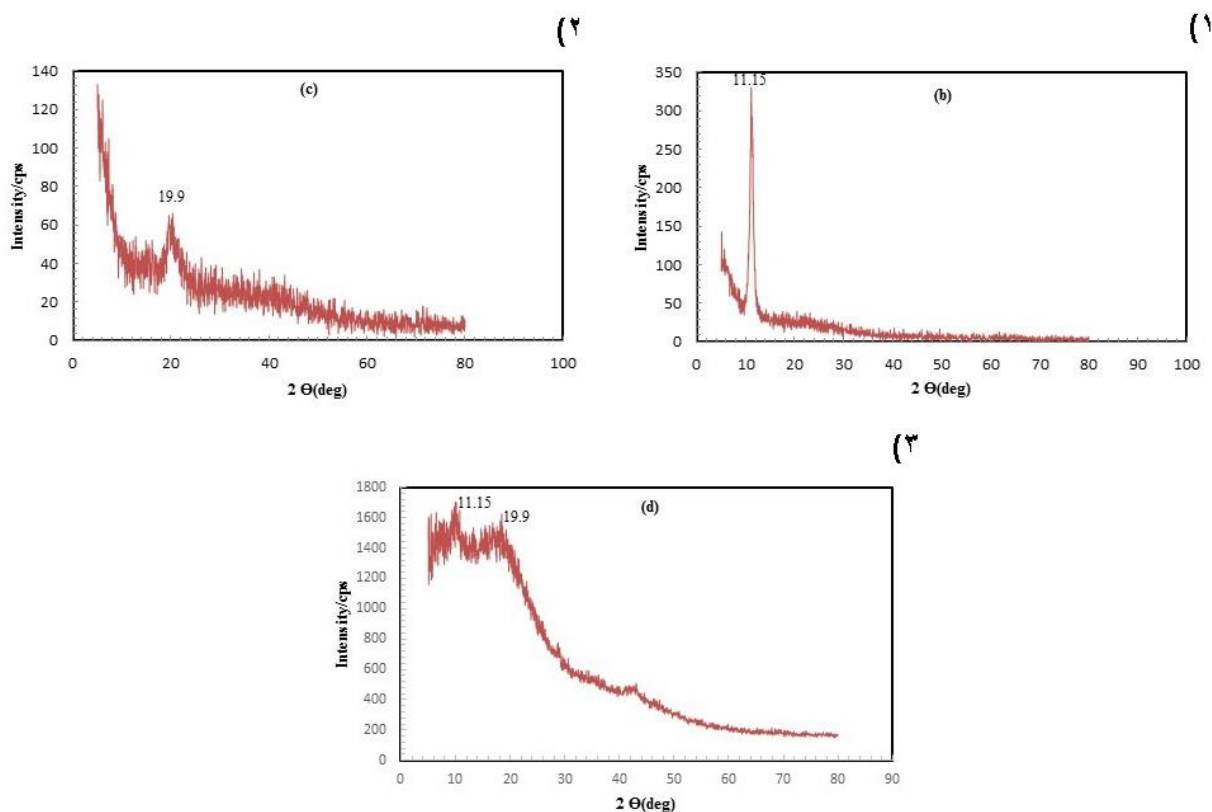
بنابراین، وقتی مواد در محیط‌های مختلف قرار می‌گیرند، در اثر گرما به الکترون‌ها انرژی داده می‌شود. هنگامی که حجم به اندازه کافی کوچک باشد، آنگاه شرایط از نظر حرارتی ناپایدار خواهد بود [۲۱].

۳-۴- آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD)

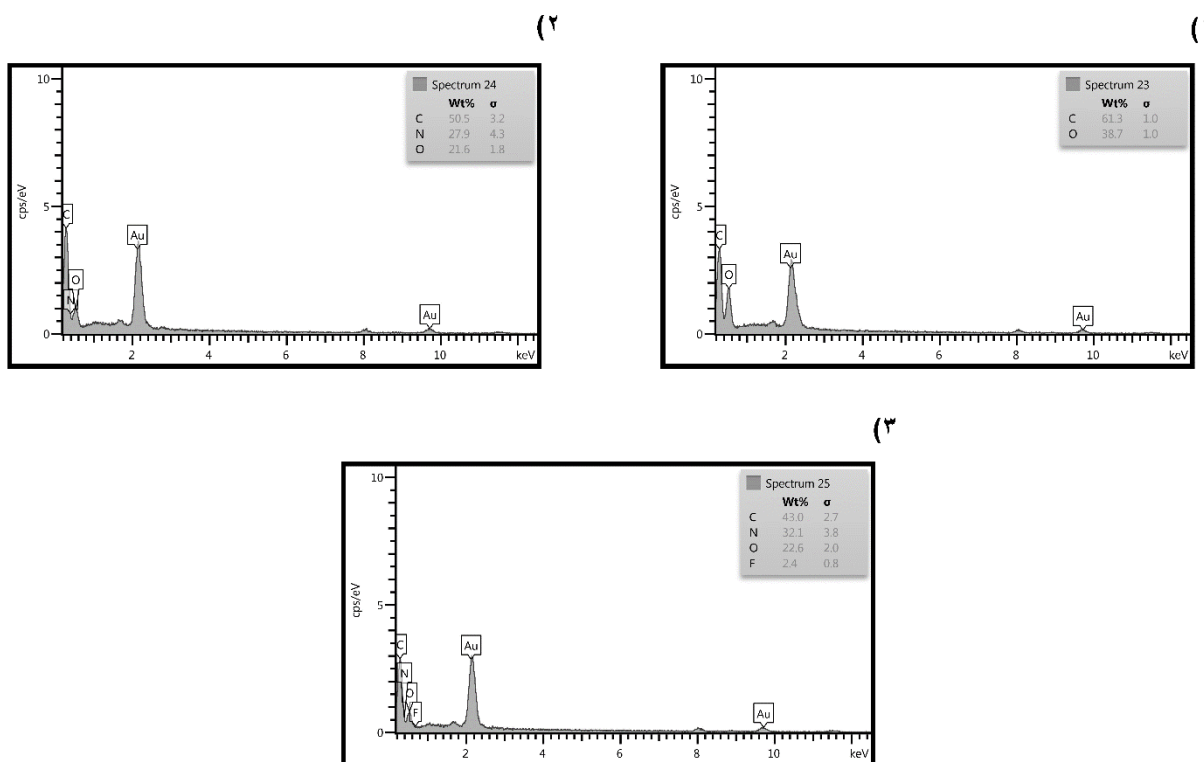
الگوهای آنالیز پراش پرتو ایکس گرافن اکساید، کیتوسان و نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید همراه با دارو در شکل ۴ نشان داده شده است. طیف مربوط به گرافن اکساید (شکل ۴-۱) تنها دارای یک پیک در $2\theta=11/15^\circ$ می‌باشد که تنها پیک موجود و مشخص برای اکسید گرافن است که نشان می‌دهد گرافیت به طور کامل اکسید شده است. هر دو الگوی کیتوسان (شکل ۴-۲) و نانو کامپوزیت سنتز شده دارای یک پیک پهن در زاویه پراش $19/9^\circ$ می‌باشد که نشان می‌دهد حالت آمورف کیتوسان تغییر نکرده است. علاوه بر این، پیکی در $2\theta=11/15^\circ$ در نانو کامپوزیت قابل مشاهده است که مربوط به ساختار کیتوسان-گرافن اکساید می‌باشد. پیک پهن مربوط به نانو کامپوزیت سنتز شده به این دلیل است که تغییرات ریزساختاری بر شدت و پهنای پیک‌های پراش پرتو ایکس تاثیر گذار است. به عنوان نمونه کاهش اندازه ذره سبب افزایش عرض پیک و کاهش شدت آن شده و بر اثر حضور بافت (به معنای جهت‌گیری ترجیحی دانه‌ها در ماده‌ایست که از چند دانه تشکیل شده است) و یا جهت‌گیری ترجیحی دانه‌ها در ساختار، شدت برخی از پیک‌ها افزایش و برخی دیگر کاهش می‌یابد [۲۲].

۲-۵- آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس (EDAX)

برای تجزیه و تحلیل ساختاری با خصوصیات شیمیایی از آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس استفاده شد. شکل ۵ خصوصیات شیمیایی گرافن اکساید، نانو کامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان و نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید همراه با دارو را نشان می‌دهد. طیف مربوط به گرافن اکساید

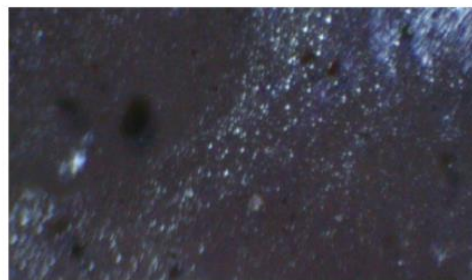


شکل ۴: آنالیز پراش پرتو ایکس (۱) گرافن اکساید، (۲) کیتوسان و (۳) نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید همراه با دارو.

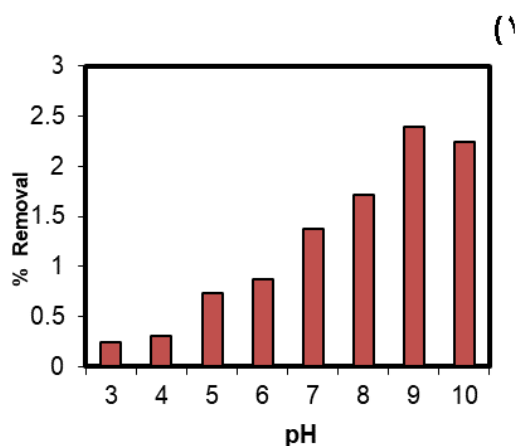


شکل ۵: آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس، (۱) گرافن اکساید، (۲) نانوکامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان و (۳) نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید همراه با دارو.

برهمکنش $\pi-\pi$ (الکترون دهنده-گیرنده) و تشکیل پیوند هیدروژنی نقش اصلی را در جذب دارو توسط نانوجاذب ایفا می‌کند. با توجه به شکل ۸، pH_{PZC} برای نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید در حدود ۶ بدست آمد و همچنین مشخص شد که سطح جاذب در pH های کمتر از ۶ دارای بار مثبت و در pH های بیشتر از ۶ دارای بار منفی و در $pH=6$ دارای بار خنثی می‌باشد.



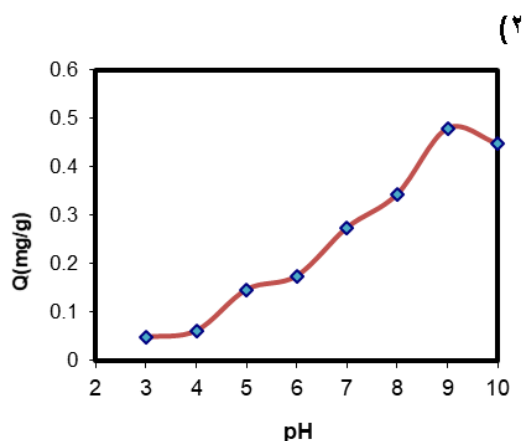
(۱)



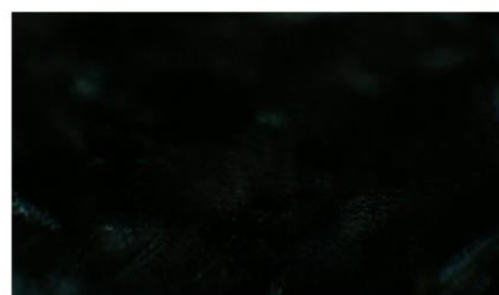
(۱)



(۲)



(۲)



(۳)

شکل ۶: ساختار فازهای کریستالی مایع در زیر میکروسکوپ پلاریزه، (۱) فاز لایه‌ای، (۲) فاز لایه‌ای-مکعبی و (۳) فاز مکعبی.

۳-۸- تعیین pH_{PZC}

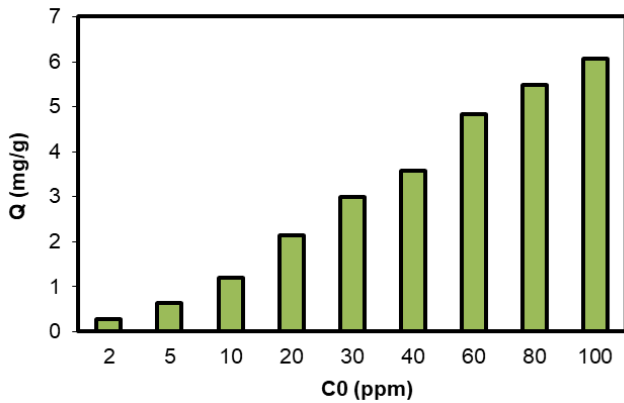
pH_{PZC} پارامتر مهمی برای تعیین برهمکنش بین جاذب و جذب شونده می‌باشد که چگالی بار سطح جاذب را نشان می‌دهد. همان‌طور که در مرحله قبل بیان شد بیشترین مقدار جذب دارو توسط نانوجاذب در $pH=9$ رخ داد که در این pH جاذب دارای بار الکتریکی منفی است. از طرفی دارو در این pH به صورت خنثی می‌باشد در نتیجه جذب سطحی نمی‌تواند از طریق نیروی الکترواستاتیک صورت گیرد بلکه

شکل ۷: تاثیر pH بر، (۱) ظرفیت جذب و (۲) درصد حذف داروی ۵-فلورویوراسیل توسط نانوکامپوزیت گرافن اکساید-کیتوسان.

۳-۹- سینتیک جذب

شکل ۹، تاثیر زمان تماس نانوجاذب کیتوسان-گرافن اکساید را بر ظرفیت جذب داروی ۵-فلورویوراسیل در $pH=9$ در دمای $20^{\circ}C$ و در زمان‌های مختلف ۲، ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه نشان می‌دهد. مطابق شکل ۹، در ابتدا به دلیل

مولکول‌های دارو و افزایش مکان‌های فعال کیتوسان-گرافن اکساید می‌شود [۲۳].



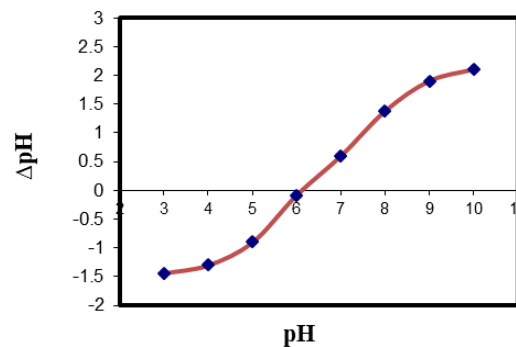
شکل ۱۰: ظرفیت نانوجاذب کیتوسان-گرافن اکساید برای جذب ۵-فلوروئوراسیل بر حسب تابعی از غلظت دارو.

۳-۱۱- مطالعه رهایش دارو

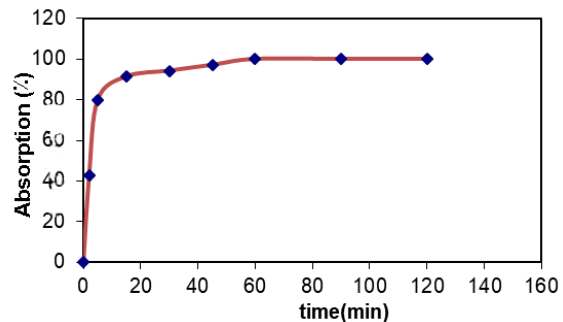
رهایش داروی ۵-فلوروئوراسیل از نانوذرات بهینه شده با و بدون ماتریس گلیسرول مونولئات در محیط شبیه‌سازی شده خارج تنی (معده و روده) و در طول مدت ۳۰ ساعت مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱۱). با توجه به شکل ۱۱-۱ مشاهده می‌شود که حدوداً ۲۱٪ از دارو از نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید با شیبی بسیار تند در مدت زمان ۰/۵ ساعت در معده آزاد شده سپس در روده با شیبی بسیار آهسته تا حدود ۶۴٪ در مدت زمان ۲۵ ساعت رهایش یافته است. شکل ۱۱-۲ که مربوط به رهایش دارو از نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید درون شبکه گلیسرول مونولئات می‌باشد، نشان می‌دهد ابتدا حدود ۲۴٪ از دارو با شیب بسیار تند و در مدت زمان ۰/۵ ساعت در معده آزاد می‌شود سپس تا حدود ۹ ساعت با شیبی ملایم تر از معده در روده رهایش یافته و سپس تا ۲۵ ساعت رهایش با شیبی بسیار آهسته تا ۸۸٪ ادامه یافته و سپس ثابت می‌شود.

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.

وجود مکان‌های فعال خالی بسیار در سطح نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید سرعت فرآیند جذب سطحی داروی ۵-فلوروئوراسیل بسیار سریع است ولی با گذشت زمان از تعداد مکان‌های فعال کاسته و سرعت جذب سطحی کم می‌شود. فرآیند جذب سطحی پس از ۳۰ دقیقه به تعادل می‌رسد.



شکل ۸: نمودار pH_{PZC} نانوکامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید.



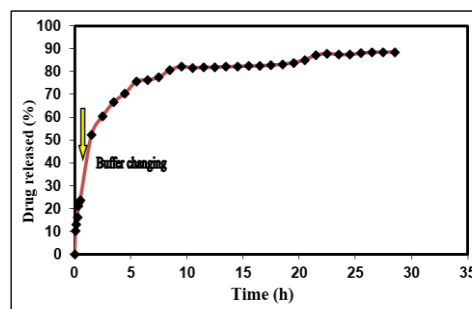
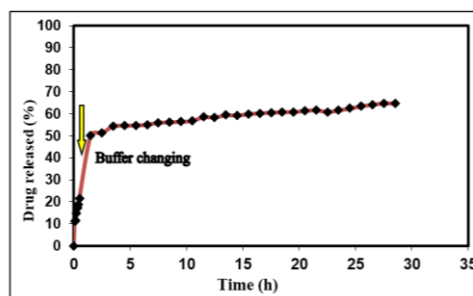
شکل ۹: تاثیر زمان تماس نانوجاذب بر ظرفیت جذب داروی ۵-فلوروئوراسیل در $pH=9$.

۳-۱۰- ایزوترم جذب

میزان جذب داروی ۵-فلوروئوراسیل در محلول‌های شامل غلظت اولیه ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و 100 mgL^{-1} از دارو بوسیله ۰/۰۰۵ گرم از نانوجاذب کیتوسان-گرافن اکساید در pH بهینه ۹ بررسی شد. همان طور که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود، هنگامی که غلظت اولیه دارو افزایش می‌یابد، ظرفیت جذب دارو نیز زیاد می‌شود، زیرا در غلظت‌های بالای دارو، مولکول‌های ۵-فلوروئوراسیل بیشتری موجود است که منجر به برخوردهای بیشتر

مربوط به نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید به علت واکنش گروه‌های کربوکسیل ناپدید شد و حمله هسته دوستی آمین به گروه‌های اپوکسی گرافن اکساید نیز موجب تشکیل آمین (پیک $1550/51 \text{ cm}^{-1}$) می‌شود. پس از جذب دارو ارتعاشات خمشی مربوطه در 1659 cm^{-1} در طیف مربوط به نانو کامپوزیت به همراه دارو ظاهر شده و نوارهای موجود در 1244 و 1345 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات C-F و C-N موجود در ساختار داروی ۵-فلورورئوراسیل می‌باشد. همچنین در طیف سنجی مربوط به نانو کامپوزیت بارگذاری شده با دارو درون شبکه گلیسرول مونولئات پیک در ناحیه 1734 cm^{-1} که مربوط به گروه استری C=O موجود در گلیسرول مونولئات می‌باشد ظاهر شده است. همچنین آنالیز پراش پرتو ایکس برای گرافن اکساید فقط یک پیک در ناحیه $11/15$ را نشان می‌دهد که بیانگر این است که تمام گرافیت اکسید شده است و ساختار کریستالی گرافن اکساید را تأیید می‌کند. طیف کیتوسان-گرافن اکساید شامل دو پیک در ناحیه $19/9^\circ$ که نشان‌دهنده حالت آمورف کیتوسان در نانو کامپوزیت و $11/15^\circ$ که نشان‌دهنده عدم واکنش مقداری گرافن اکساید با کیتوسان است می‌باشد. همچنین آنالیز وزن‌سنجی حرارتی نشان داد که گرافن اکساید در دمای 180°C تا 230°C به دلیل وجود گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار 20% از وزن خود را از دست داده و در نهایت 50% از وزن خود در دمای 600°C از دست می‌دهد که این بیانگر عدم پایداری گرافن اکساید در مقابل افزایش درجه حرارت بود. در مقابل، نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید در نهایت 69% از وزن خود را در دمای 600°C از دست داده که در مقایسه با گرافن اکساید با کاهش وزن بیشتری مواجه شده است که می‌توان نتیجه گرفت کیتوسان به خوبی سطح گرافن اکساید را پوشانده است و همچنین مقاومت حرارتی بالاتری نسبت به آن دارد. بررسی تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی ابعاد در حد نانومتر را به خوبی نشان داد. آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس مقادیر $61/3\%$ کربن، $38/7\%$ اکسیژن را برای گرافن اکساید (بیانگر

همچنین نتایج حاصل نشان می‌دهد که رهایش دارو در حالتی که نانوذرات درون شبکه گلیسرول مونولئات قرار گرفته‌اند نسبت به نانوذرات به تنهایی، آهسته‌تر و کنترل شده‌تر و همچنین با درصد رهایش بالاتر صورت می‌گیرد.



شکل ۱۱: روند آزادسازی دارو در محیط معده و روده از (۱) نانوذرات بهینه و (۲) نانوذرات بهینه در گلیسرول مونولئات.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش نانورقه‌های گرافن اکساید به روش هامرز سنتز شد و در ادامه سطح گرافن اکساید سنتزی با نانوذره کیتوسان اصلاح شده و پس از بارگذاری دارو، وارد شبکه ماتریسی گلیسرول مونولئات شد. سپس ساختار بلوری و ویژگی‌های سطحی نانو کامپوزیت با استفاده از طیف‌سنجی مادون قرمز، آنالیز پراش پرتو ایکس، آنالیز وزن‌سنجی حرارتی و تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد تأیید قرار گرفت. آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز نشان داد که گرافن اکساید سنتز شده دارای گروه‌های عاملی هیدروکسیل و کربوکسیل فراوانی بوده و گروه کربوکسیل در طیف

مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که در مورد نانوذرات بهینه درون ماتریس گلیسرول مونولئات رهایش آهسته تری صورت گرفته است.

مراجع

- [1] D. Nevozhay, U. Kanska, R. Budzynska, J. Boratynski, *Postepy HigMed Dosw.*, **61**, 2007, 350.
- [2] Z. Agnieszka, Wilczewska, *Pharmacological Reports*, **64**, 2012, 1020.
- [3] J. Liu, L. Cui, D. Losic, *Acta Biomaterial*, **9**, 2013, 9243.
- [4] L. Feng, L. Wu, X. Qu, *Adv Material*, **25**, 2013, 168.
- [5] L.J. Cote, J. Kim, V. Tung, J. Luo, F. Kim, J. Huang, *Pure Appl. Chem.*, **83**, 2011, 95.
- [6] M. Monier, D.M. Ayad, D.A. Abdel-Latif, *Colloid. Surface B*, **94**, 2012, 250.
- [7] M. Wu, S. Huang, *Mol. Clin. Oncol.*, **7**, 2017, 738.
- [8] Z. George, Kyzas, A. Nikolina, Travlou, A. Eleni, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **113**, 2014, 467.
- [9] M.H. Shah, A. Paradkar, *International J. of Pharmaceutics*, **294**, 2005, 161.
- [10] S. Milak, A. Zimmer, *Int. J. Pharm.*, **478**, 2015, 569.
- [11] G.L. Beatty, W.L. Gladney, *An official journal of the American Association for Cancer Research*, **21**, 2015, 687.
- [12] Z. Zhao, S. Lou, Y. Hu, J. Zhu, C. Zhang, *Molecular Pharmaceutics*, **14**, 2017, 2697.
- [13] P.L. Zhang, Z.L. Lai, H.F. Chen, M. Zhang, A. Wang, T. Jia, W.Q. Sun, X.M. Zhu, X.F. Chen, Z. Zhao, J. Zhang, *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **36**, 2017, 36.
- [14] K. Kumar, M.H. Shah, A. Ketkar, K.R. Mahadik, *International journal of pharmaceutics*, **272**, 2004, 151.
- [15] W.J. Trickler, J. Khurana, A.A. Nagvekar, A.K. Dash, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **11**, 2010, 392.
- [16] J. Wang, C. Liu, Y. Shuai, X. Cui, L. Nie, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **113**, 2014, 223.
- [17] N.A. Travlou, G.Z. Kyzas, N.K. Lazaridis, E.A. Deliyanni, *Chemical Engineering Journal*, **217**, 2013, 256.
- [18] A. Lübbe, C. Alexiou, C. Bergemann, *Journal of Surgical Research*, **95**, 2001, 200.
- [19] R. Zarzycki, Z. Modrzejewska, K. Nawrotek, *Chemical Engineering*, **17**, 2010, 117.
- [20] G.Z. Kyzas, N.A. Travlou, E.A. Deliyanni, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **113**, 2014, 467.
- [21] Y. Mithilesh, K.Y. Rhee, S.J. Park, D. Hui, *Composites Part B: Engineering*, **66**, 2014, 89.
- [22] G. Bagheri, F.A. Dorkoosh, E. Vashghani-Farahani, M. Ardjmand, *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, **5**, 2015, 81.
- [23] Z. Glavcheva-Laleva, V. Varadinova, S. Kerekov, D. Pavlov, *Bulgarian Chemical Communications*, **47**, 2015, 118.

درجه بالای اکسید شدن گرافن اکساید سنتز شده) و مقادیر ۵۰/۵٪ کربن (به علت ساختار کربنی گرافن اکساید)، ۲۷/۹٪ نیتروژن (به علت وجود کیتوسان بر سطح گرافن اکساید) و ۲۱/۶٪ اکسیژن (به خاطر وجود گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار) را برای نانو کامپوزیت کیتوسان-گرافن اکساید نشان داد. همچنین در آنالیز مربوط به نانو کامپوزیت به همراه دارو، مقدار ۲/۴٪ فلئور را نشان داد که تاییدی بر حضور داروی ۵-فلوروئوراسیل می باشد. pHهای ۱۰-۳ جهت تعیین pH بهینه برای جذب داروی ۵-فلوروئوراسیل مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین جذب در pH=۹ رخ داد که می تواند به دلیل ساختار بازی دارو باشد که به دلیل حل نشدن دارو در محیط باز جذب سطح نانو کامپوزیت شده است. pH_{PZC} نیز برای نانو کامپوزیت در حدود pH=۶ بدست آمد. تاثیر زمان تماس نانوجاذب بر ظرفیت جذب دارو در pH=۹ در زمان‌های مختلف ۲، ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه بررسی و مشخص شد که فرآیند جذب سطحی پس از ۳۰ دقیقه به تعادل می رسد. ساختار نانو کامپوزیت بارگذاری شده با دارو درون شبکه گلیسرول مونولئات با نسبت‌های وزنی مختلف ۰/۴، ۰/۳ و ۰/۲ به ۱ (آب:گلیسرول مونولئات) توسط میکروسکوپ نور پلاریزه مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که نسبت ۰/۴ به ۱ دارای ساختار مکعبی بوده و ساختاری پایدار و با ویسکوزیته بالا می باشد که می تواند یک سیستم آهسته رهش برای آزادسازی داروها فراهم کند. همچنین رهایش داروی ۵-فلئوراسیل از نانوذرات بهینه شده و بدون ماتریس گلیسرول مونولئات در محیط شبیه سازی شده خارج تنی در محیط معده و روده در طول مدت ۳۰ ساعت