



DOI: 10.22034/ijche.2021.254558.1061

DOR: 20.1001.1.17355400.1400.20.115.3.6

# همه‌نشت نانوحامل‌های مزومتخلخل سیلیکا با زیست‌سازی بالا و توزیع منظم و یکنواخت حفره‌ها برای دارورسانی داروی دوکسوروبیسین

سحر پرننگ<sup>۱</sup>، نادر راحمی<sup>۲\*</sup>، سودابه داوران<sup>۳</sup>، مجید مهدوی<sup>۴</sup>، بلال حسن‌زاده<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند

۲- دانشیار مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند

۳- استاد داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۴- دانشیار بیوشیمی، دانشگاه تبریز

۵- دکتری تخصصی دامپزشکی، دانشگاه تبریز

پیام نگار: n\_rahemi@sut.ac.ir

## چکیده

در این مطالعه، نانوحامل‌های مزومتخلخل سیلیکای زیست‌سازگار همراه با توزیع منظم و یکنواخت حفره‌ها از منابع طبیعی هم‌چون سبوس برنج و گندم تحت فرایند سل-ژل برای دارورسانی پایدار به سلول‌های سرطان سینه همه‌نشت شدند. خواص فیزیکی و شیمیایی نانوحامل‌ها با تجزیه‌های FT-IR، XRD، SEM و BET بررسی شد. نانوحامل‌های حاصل از سبوس برنج و گندم به‌ترتیب دارای مساحت سطح ویژه ۷۴۱ و ۶۳۰ m<sup>2</sup>/g همراه با توزیع منظم و یکنواخت حفره‌ها با اندازه ۲/۶ و ۳/۶ nm بودند. داروی دوکسوروبیسین به‌عنوان داروی مدل در نانوحامل‌ها بارگیری و رهش دارو در دو pH ۷/۴ و ۵/۴ بررسی شد. نتایج حاکی از دو برابر شدن نرخ رهش دارو در شرایط اسیدی شبیه‌ساز محیط توموری بود. با بررسی سمیت سلولی نانوحامل‌ها روی رده‌های سلولی HFF-2 و MCF-7 مشخص شد که نانوحامل‌ها دارای زیست‌سازی بالا هستند و موجب جلوگیری از رشد و هم‌چنین مرگ سلول‌های سرطانی شده‌اند.

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۰۵

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۲۸

شماره صفحات: ۳۱ تا ۴۲

## کلیدواژه‌ها: نانوذرات

مزومتخلخل سیلیکا، حفره‌های

یکنواخت، سبوس برنج، سبوس

گندم، دارورسانی، سرطان سینه

## ۱. مقدمه

در دنیای مدرن کنونی با وجود پیشرفت‌های شگرف در زمینه پزشکی و درمان بیماری‌ها؛ اما درمان سرطان هم‌چنان به‌عنوان یک چالش بزرگ پابرجاست. داروهای ضد سرطان کلینیکی کنونی به‌دلیل

زیست‌سازی<sup>۱</sup> کم، حذف سریع از بدن، دوز مصرفی بالا، فارماکوکینتیک<sup>۲</sup> ضعیف و عوارض جانبی بسیار، دوره‌های درمانی فعلی را پرهزینه، طاقت فرسا و محدود کرده است. از جمله روش‌های نوین برای مقابله با سرطان به‌کارگیری فناوری نانو در زمینه

1. Biocompatibility  
2. Pharmacokinetics

\* تبریز، دانشگاه صنعتی سهند، دانشکده مهندسی شیمی

زیست‌پزشکی<sup>۱</sup> است که در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است [۱ و ۲]. نانو حامل‌ها<sup>۲</sup> از جمله نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا<sup>۳</sup> (MSNs)، سامانه‌های دارورسان جدیدی هستند که قابلیت حمل و محافظت از دارو در برابر موانع فیزیولوژیک را دارند و از این رو توانایی رفع بسیاری از مسائل مطرح‌شده را دارا هستند. برخی از خصوصیات منحصر به فرد آن‌ها شامل مساحت سطح زیاد، حجم حفره‌ای بالا، ساختار مزوحفره‌ای پایدار، قطر منافذ قابل تنظیم، داشتن سطوح داخلی و خارجی با قابلیت عامل‌دار شدن و ریخت‌شناسی قابل اصلاح (کنترل‌پذیری اندازه و شکل ذره)، اصلاح سطح آسان، پایداری و زیست‌سازگاری مناسب است که موجب کارآمدی و محبوبیت آن‌ها در سامانه‌های دارورسانی شده است [۳-۵]. هم‌چنین از دیگر خصوصیات یک سامانه دارورسان موفق، رهش پایدار و کنترل‌شده داروست. نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا برای پایداری بالا در بدن می‌توانند دارو را در محل مناسب به‌صورت پایدار و کنترل‌شده رها کنند تا در هر لحظه، دوز مناسبی از دارو در محل سرطانی در دسترس باشد. ریخت‌شناسی مناسب و توزیع یکنواخت و منظم حفره‌ها از عوامل مهم تأثیرگذار در بهبود خاصیت رهش پایدار دارو از نانوذرات مزومتخلخل سیلیکاست [۶]. نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا غالباً از آبکافت و تراکم آلکوکسیدهای فلزی نظیر تترائیل اورتو سیلیکات<sup>۴</sup>، تری متیل اورتو سیلیکات<sup>۵</sup> و متیل تری اتوکسی سیلان همنهشت می‌شوند [۷ و ۸]. با توجه به تهیه مشکل آلکوکسیدها و گرانبایان‌ها و هم‌چنین افزایش تقاضای سیلیکا در مسائل کاربردی گسترده از قبیل مصارف دارویی، پزشکی، کشاورزی و تصفیه آب [۹-۱۲]، توجه پژوهشگران به همنهشت این نانوذرات از پیش‌ماده‌های در دسترس و مقرون به صرفه و زیست‌سازگار افزایش یافته است. سدیم سیلیکات به‌عنوان یک پیش‌ماده ارزان‌قیمت و در دسترس می‌تواند منبع مناسبی برای تهیه نانوذرات سیلیکا باشد. با این وجود در حال حاضر، تولید صنعتی سدیم سیلیکات نیاز به انرژی بسیار زیادی دارد؛ چرا که در این روش سدیم سیلیکات از ذوب مخلوط کربنات سدیم و ماسه کوارتز با کیفیت بالا در دمای ۱۳۰۰ تا ۱۶۰۰ °C حاصل می‌شود [۱۳ و ۱۴]. هم‌چنین این روش موجب تولید حجم بالای گاز CO<sub>2</sub> ناشی از سوزاندن سدیم کربنات و سوخت

مورد نیاز برای رساندن دما به دمای مورد نظر می‌شود [۱۵]. بنابراین، همنهشت سدیم سیلیکات از محصولات جانبی صنعتی غنی از سیلیس به‌شدت در حال بررسی است. مطالعات مشخص کرده‌اند که سبوس غلاتی هم‌چون برنج و گندم حاوی مقادیر زیادی از سیلیکای آمورف است، به گونه‌ای که بسته به شرایط جوی، ترکیبات خاک و نوع آن، معمولاً ۲۰ الی ۲۵ درصد جرمی سبوس برنج خشک [۱۶] و ۸ الی ۱۰ درصد جرمی سبوس گندم خشک را سیلیکا تشکیل داده است [۱۷]. بنابراین استخراج نانوذرات سیلیکا با درجه خلوص بالا از ضایعات غلات روش نوین برای تولید این محصول از دور ریزهای کشاورزی است. در همین راستا مطالعاتی در رابطه با همنهشت نانوذرات سیلیکا از سبوس غلات انجام گرفته است. در طی یک مطالعه ریخت‌شناختی، رنوکا<sup>۶</sup> و همکارانش، موفق به همنهشت نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا از نوع MCM-41 و SBA-16 شدند [۱۸]. در مطالعه‌ای دیگر، ژانگ<sup>۷</sup> و همکارانش نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا از نوع MCM-48 را از منبع سبوس برنج تولید کردند. سپس برای جذب CO<sub>2</sub>، سطح نانوذرات اصلاح و گروه‌های آمینی روی آن‌ها ایجاد شد [۱۹]. با توجه به قابلیت منحصر به فرد نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا در دارورسانی، در این مطالعه، سعی بر آن است تا از دیدگاه شیمی سبز، نانوذرات سیلیکای موجود در سبوس برنج و گندم را که به ترتیب RSN و WSN نامگذاری شده‌اند، استخراج کرد. سپس، برای افزایش کارایی دارورسانی و بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی، نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا را با توزیع منظم و یکنواخت حفره‌ها که به ترتیب با نام‌های RMSN-S و WMSN-S مشخص شده‌اند، به کمک فرایند سل-ژل همنهشت کرد. داروی دوکسوروبیسین<sup>۸</sup>، به‌عنوان داروی مدل که در درمان طیف وسیعی از سرطان‌ها کاربرد دارد، در نانوحامل‌ها بارگیری و رهش آن بررسی شد. هم‌چنین سمیت نانوحامل‌ها بر روی سلول‌های سالم مدل HFF-2 و سمیت نانوحامل‌ها همراه با دارو روی سلول‌های سرطانی مدل MCF-7 بررسی شد.

## ۲. مواد آزمایشگاهی

سبوس برنج و سبوس گندم به‌عنوان پیش‌ماده سیلیکایی، از داخل ایران تهیه شد. هیدروکلریک اسید (HCl)، هیدروکسید سدیم

1. Biomedical
2. Nano Carrier
3. Mesoporous Silica Nanoparticles
4. Tetraethyl Orthosilicate (TEOS)
5. Tetramethyl Orthosilicate (TMOS)

6. Renuka
7. Jang
8. Doxorubicin

دمای °C ۵۰۰ به مدت ۴ ساعت با نرخ °C/min ۵ کلسینه شد. به همین ترتیب نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S همنهشت شدند.

### ۳-۲ بارگیری دارو

برای بارگیری دارو در نانوحامل‌های همنهشتی، ۵ mg از نانوحامل‌ها در ۵۰ mL محلول بافری فسفات دیسپرس شده و سپس ۵ mg داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید به مخلوط اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و در محیط تاریک روی همزن قرار گرفت و پس از سپری شدن زمان لازم، نانوحامل‌های بارگیری شده به وسیله سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ rpm جدا شدند. مقدار داروی بارگیری نشده در محلول رویی باقیمانده از سانتریفیوژ به وسیله دستگاه UV در طول موج ۴۸۲ nm اندازه‌گیری شد و با کمک معادلات زیر، درصد داروی بارگیری شده و درصد انکپسولاسیون به دست آمد.

$$\text{درصد انکپسولیشن} = \frac{\text{مقدار داروی بارگیری نشده} - \text{مقدار داروی اولیه}}{\text{مقدار نانوحامل}}$$

$$\text{درصد بارگیری دارو} = \frac{\text{مقدار داروی بارگیری نشده} - \text{مقدار داروی اولیه}}{\text{مقدار داروی اولیه}}$$

### ۳-۳ بررسی رفتار رهش داروی دوکسوروبیسین از نانوحامل‌ها

محلول بافری فسفات با دو pH مختلف ۴/۷ و ۴/۵، برای شبیه‌سازی محیط بدن و نقاط سرطانی، در نظر گرفته شد. نانوحامل‌های بارگیری شده به وسیله دوکسوروبیسین، بلافاصله پس از بارگیری، داخل ۴ mL از محلول‌های بافری دیسپرس می‌شود و در طی فواصل زمانی مشخصی داخل شیکر انکوباتور با دمای °C ۳۷ و دور ۱۵۰ rpm قرار می‌گیرد. در انتهای هر فاصله زمانی، محلول رویی به وسیله سانتریفیوژ جدا و با محلول بافری تازه جایگزین می‌شود. در نهایت برای اندازه‌گیری درصد رهش دارو، مقدار دارو در هر فاصله زمانی با کمک دستگاه UV در طول موج ۴۸۲ nm اندازه‌گیری و نسبت به کل داروی بارگیری شده ارزیابی می‌شود.

(NaOH) و اسید سولفوریک (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) از شرکت مرک آلمان بدون هیچ‌گونه عملیات تخلیص و آماده‌سازی، خریداری شد. هم‌چنین ستیل تری متیل آمونیوم برومید (۹۹٪ CTAB)، به‌عنوان سورفکتانت، از شرکت مرک فراهم شد. داروی مدل دوکسوروبیسین هیدروکلراید نیز از داروخانه دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و رده‌های سلولی HFF-2 و MCF-7 از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. برای انجام تست‌های سلولی سرم جنین گاوی (FBS)، محیط کشت RPMI 1640 و پنسیلین-استرپتومایسین از شرکت گیپکو اسکاتلند و محلول بافر فسفات (PBS)، پودر MTT، تریپسین و دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) از شرکت سیگما آلدریج آمریکا خریداری شد.

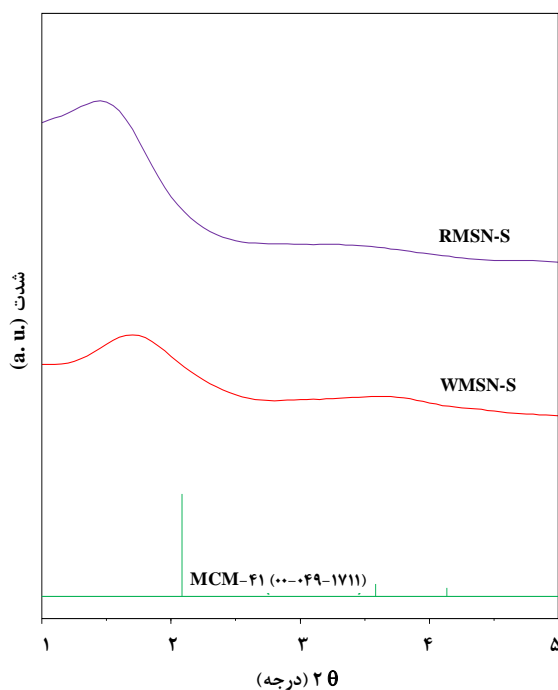
### ۳. روش آزمایش

#### ۳-۱ همنهشت نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S

برای استخراج سیلیکای موجود در سبوس برنج و گندم (RSN و WSN)، پس از شستشوی کامل سبوس‌ها با آب برای رفع کدورت و گرد و غبار، یک مرحله اسیدشویی به مدت ۳ ساعت در دمای °C ۹۰ به کمک هیدروکلریک اسید یک نرمال انجام شد. پس از خشک‌شدن سبوس‌ها در طول شب در دمای °C ۹۰، نمونه‌ها در دمای °C ۵۵۰ به مدت ۴ h با نرخ °C/min ۵ کلسینه شدند و به همین ترتیب نانوذرات RSN و WSN همنهشت شدند. محلول سدیم سیلیکات به‌عنوان پیش‌ماده همنهشت نانو ذرات مزومتخلخل سیلیکا از حل شدن ۱ g از RSN و WSN با ۷/۰۴ mL محلول هیدروکسید سدیم ۱ M در دمای °C ۸۰ فراهم شد. برای تهیه محلول سورفکتانت، ۸ g از CTAB به طور کامل در ۱۰۰ mL آب دیونیزه در °C ۴۰ به مدت ۱ ساعت حل و اسیدیته محلول به وسیله اسید سولفوریک یک مولار روی ۶/۵ تنظیم شد. سپس نیمی از مخلوط سدیم سیلیکات به مخلوط سورفکتانت اضافه و بعد از ۱ h باقیمانده آن به مخلوط واکنش افزوده شد. در پایان، pH مخلوط با کمک محلول سود ۱ M روی ۱۱/۲۵ تنظیم و محلول برای ۱ ساعت دیگر هم زده شد. مخلوط واکنش برای پیرسازی به مدت ۲۴ ساعت در دمای °C ۱۰۰ به اتوکلاو انتقال یافت و پس از طی این فرایند، جامد رسوبی ته ظرف به وسیله فیلتر خلأ چندین بار با آب مقطر شستشو داده شد. سپس نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق داخل محلول سالین هم زده و پس از خشک‌شدن در

## ۴-۲ بررسی سمیت سلولی

دمای کلسیناسیون با حالت مرجع بوده است [۲۱]. هم‌چنین، همان‌گونه که از شکل پیداست، شدت پیک اصلی در زاویه  $7/1^\circ$  در نانوحامل RMSN-S بیشتر از شدت این پیک در WMSN-S است. با توجه به روش هم‌نهشت مشابه در هر دو نمونه، ایجاد چنین تغییری می‌تواند ناشی از کریستالی‌تر بودن دانه‌های سیلیکای موجود در سبوس برنج نسبت به سبوس گندم باشد.



شکل ۱. الگوی پخش پرتو X به‌ترتیب از بالا به پایین برای نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S.

## ۴-۲ طیف‌سنجی مادون قرمز

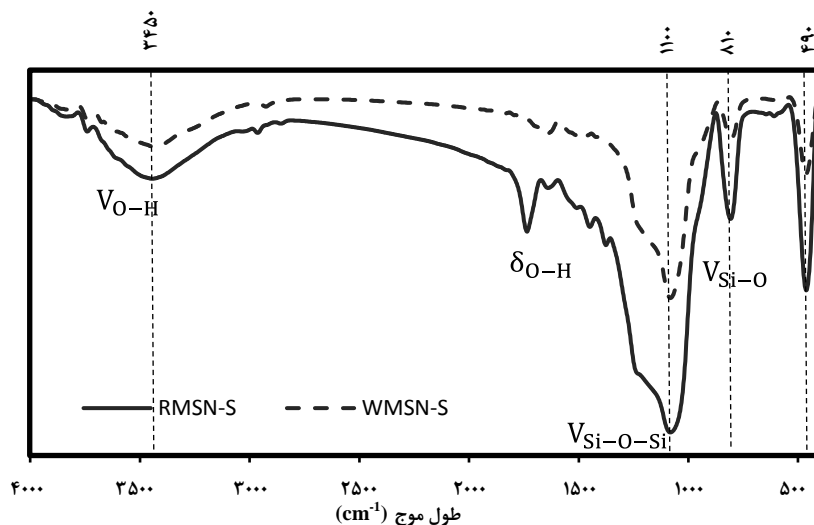
تجزیه طیف‌سنجی مادون قرمز برای تشخیص باندهای اصلی شبکه سیلیکایی انجام گرفته است. همان‌گونه که از شکل (۲) پیداست، سه پیک شاخص شبکه سیلیکایی در طول موج‌های  $810$ ،  $490$  و  $1100 \text{ cm}^{-1}$  به دلیل کشش نامتقارن و متقارن Si-O-Si به وضوح برای هر دو نمونه تشکیل شده است که با مطالعات پیشین کاملاً مطابقت دارد [۲۲]. پیک‌های مربوط به طول موج‌های  $1620$  و  $3450 \text{ cm}^{-1}$  به‌ترتیب مربوط به ارتعاش کششی گروه O-H حاصل از جذب فیزیکی آب و کشش متقارن گروه Si-OH است. نتایج حاکی از هم‌نهشت صحیح شبکه سیلیکایی برای نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S است.

برای بررسی زیست‌سازگاری نانوحامل‌های هم‌نهشتی، سلول‌های HFF-2 با تراکم  $10^4 \text{ cell/well}$  در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای نشانداده شد و ۲۴ ساعت داخل انکوباتور قرار گرفت تا سلول‌ها به کف چاهک‌ها بچسبند. سپس  $100 \mu\text{L}$  از نانوحامل‌ها با غلظت‌های  $8/0$  تا  $400 \mu\text{g/mL}$  به چاه‌ها با سه تکرار، اضافه و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. در روز آخر  $80 \mu\text{L}$  از مایع رویی چاهک‌ها دور ریخته و به میزان  $20 \mu\text{L}$  از محلول MTT ( $5 \text{ mg/mL}$ ) در داخل محلول بافری فسفات) به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۳ ساعت داخل انکوباتور قرار گرفت. پس از سپری‌شدن زمان مقرر، مایع رویی چاهک‌ها تخلیه شد و به کریستال‌های بنفش رنگ فورمازون تشکیل شده،  $100 \mu\text{L}$  دی‌متیل سولفوکسید اضافه شد و به مدت  $20 \text{ min}$  روی شیکر قرار گرفت. نسبت تعداد سلول‌های زنده به تعداد سلول‌های کنترل به‌وسیله دستگاه الیزر ریدر در طول موج  $570 \text{ nm}$  به دست آمد. برای بررسی سمیت نانوحامل‌های بارگیری‌شده با دوکسوروبیسین فرایند بالا بر روی سلول‌های سرطانی MCF-7 با غلظت‌های دارویی  $0/08$  تا  $20 \mu\text{g/mL}$  انجام گرفت. در بررسی این فرایندها سه چاهک به‌عنوان چاهک‌های کنترل که تحت برهمکنش با نانوحامل‌ها نبودند، در نظر گرفته شدند.

## ۴. بحث و بررسی نتایج

## ۴-۱ الگوی پخش پرتو X (XRD)

برای هم‌نهشت نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا از سبوس غلات، پس از استخراج سیلیکا از سبوس برنج و گندم و هم‌نهشت نانوذرات RSN و WSN، پیش‌ماده سدیم سیلیکات تهیه شد. طی آبکافت و تراکم سدیم سیلیکات طی فرایند سل-ژل در حضور سورفکتانت، نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S هم‌نهشت شدند. شکل (۱) به‌ترتیب از بالا به پایین، الگوی XRD با زاویه کمتر از  $10^\circ$  را برای نانوذرات مزومتخلخل سیلیکا حاصل از سبوس برنج و گندم نشان می‌دهد. طبق شکل (۱)، برای هر دو نمونه، در زاویه  $2\theta$  برابر با  $2^\circ$  پیکی با شدت بالا و با اندیس میلر (۱۰۰) و هم‌چنین پیک ضعیف در موقعیت  $7/3^\circ$  به وجود آمده است که مشخصه نانوذرات مزومتخلخل سیلیکای کریستالی از نوع MCM-41 است [۲۰]. جابه‌جایی پیک در موقعیت  $2\theta$  برابر با  $7/1^\circ$  احتمالاً به دلیل تفاوت



شکل ۲. طیف‌سنجی مادون قرمز نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S.

نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S، دارای در صد وزنی ۳۵/۶۱ و ۶۵/۳۸٪ از عنصر Si و ۴۲ و ۵۸٪ عنصر O در ساختارشان هستند که این تفاوت می‌تواند دلیلی دیگر بر متراکم‌تر بودن شبکه سیلیکایی در نانوحامل RMSN-S باشد.

#### ۴-۴ تجزیه اندازه‌گیری مساحت سطح BET

هدف از به‌کارگیری سورفکتانت CTAB، ایجاد حفره‌های مزو در ساختار نانوذرات بود. برای بررسی خصوصیات سطحی و حفره‌ای، نمونه‌ها تجزیه BET شدند. شکل (۴) الف و ت نشان‌دهنده ایزوترم‌های جذب و دفع گاز نیتروژن، (۴) ب و ث) منحنی توزیع حفرات و (۴) ت و ج) نشان‌دهنده منحنی t-plot برای هر دو نانوحامل هستند. ایزوترم‌های جذب و دفع نیتروژن ترکیبی از انواع I و IV و دارای هیستریسیس از فشار نسبی ۴/۰ تا ۱ است که این امر وجود حفره‌های مزومتخلخل را تأیید می‌کند [۲۳]. هم‌چنین شیب تند تغییرات ایجادشده در محدوده فشار نسبی ۳/۰ تا ۴/۰ در هر دو نمودار، نشان‌دهنده وجود مزوحفره‌ها با اندازه یکنواخت و منظم است [۲۴-۲۶]. منحنی توزیع اندازه حفره‌ها نیز نمایانگر توزیع منظم و یکنواخت اندازه حفره‌هاست. قطر متوسط حفره‌ها برای نانوحامل حاصل از سبوس برنج و سبوس گندم، به‌ترتیب ۶/۲ و ۴/۳ nm و در محدوده مزو است. هم‌چنین سایر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

#### ۳-۴ میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ

#### الکترونی عبوری (TEM)

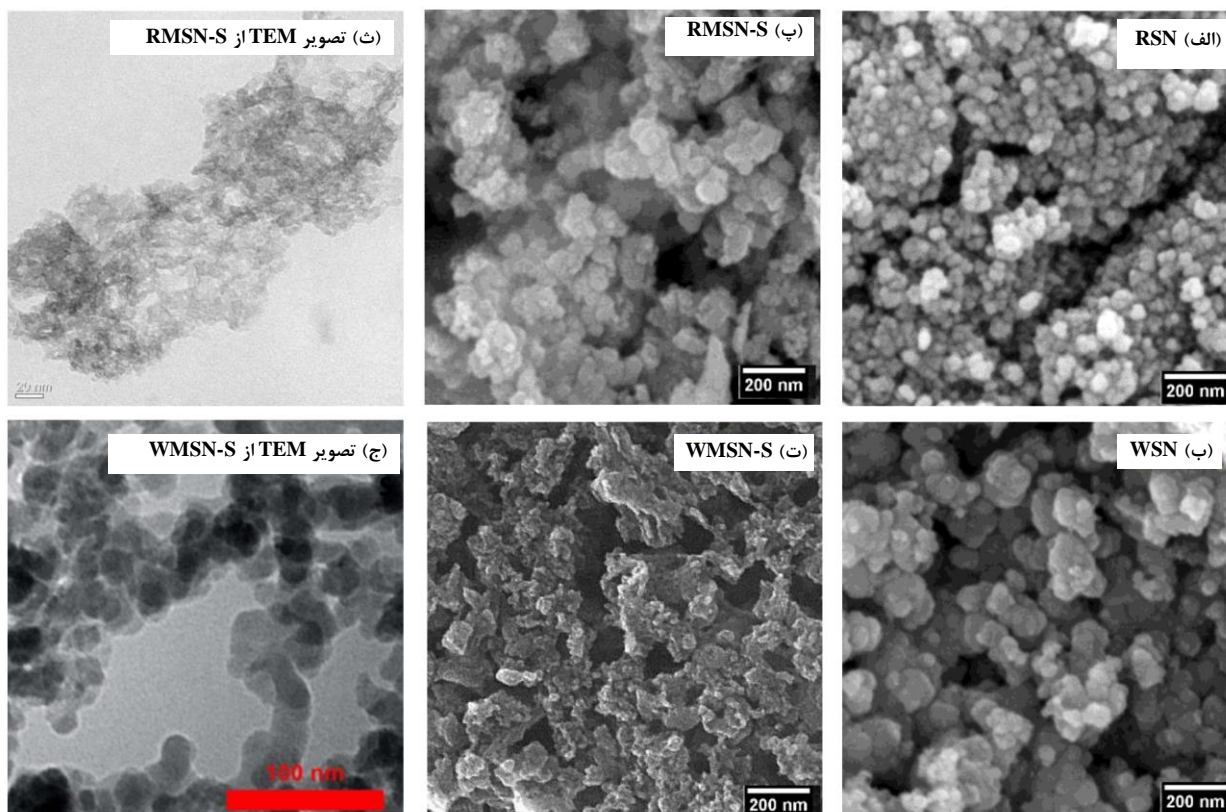
خصوصیات ریخت‌شناختی سطحی و ساختاری و هم‌چنین اندازه نانوذرات به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) بررسی شد. شکل (۳) الف و ب) به‌ترتیب نمایانگر تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانوحامل‌های WSN، RSN و (۳) پ و ت) به‌ترتیب نمایانگر تصاویر نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S است. همان‌گونه که در تصاویر مشخص است، نانوذرات به شکل کروی است و با بررسی سایز نانوحامل‌ها از روی تصویر SEM مشخص شد که قطر متوسط نانوحامل RMSN-S، در محدوده ۳۰ nm و قطر متوسط نانوحامل WMSN-S، در محدوده ۲۰ nm است. شکل (۳) ث، و نشان‌دهنده تصاویر TEM از نمونه RMSN-S و WMSN-S هستند. تصویر TEM مربوط به نمونه RMSN-S نشان‌دهنده ساختار غیرکریستالی و متخلخل این نانوذره است. در مورد نمونه WMSN-S، تصویر TEM نشان‌دهنده نانوذرات کروی و منظم‌تر است. تفاوت‌ها در ریخت‌شناسی و اندازه ذرات می‌تواند در خصوصیات و ظرفیت دارورسانی نانوحامل‌ها تأثیرگذار باشد. مقدار کمی تجزیه و تحلیل عنصری از تجزیه EDS که نمایانگر درصد وزنی عناصر Si و O برای نانوذرات مزومتخلخل بایوسیلیکای حاصل از سبوس برنج و گندم به‌دست آمد.

دارو در نانوحامل‌ها، درصد رهش دارو در دو محیط با اسیدیته‌های ۴/۷ و ۴/۵ که به ترتیب شبیه‌ساز محیط فیزیولوژیکی طبیعی بدن و بافت‌های سرطانی هستند، بررسی شد. شکل (۵) - الف) نشان‌دهنده نمودار جذب حاصل از طیف‌سنج مرئی و ماوراء بنفش (UV-Vis) در محدوده طول موج ۵۸۰ الی  $400 \text{ cm}^{-1}$  برای داروی دوکسوروبیسین قبل از فرایند بارگیری و داروی بارگیری‌نشده در نانوحامل‌ها پس از فرایند بارگیری داروست. درصد بارگیری دارو در نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S به ترتیب برابر با ۳۴ و ۵/۴۱٪ و همچنین درصد انکپسولاسیون به ترتیب برابر با ۳/۲۸ و ۵/۳۴٪ بود. بالا بودن درصد بارگیری و انکپسولاسیون دارو در نانوحامل WMSN-S به دلیل بزرگتر بودن سایز حفره‌های آن بوده است. شکل (۵) - ب)، نمایانگر منحنی رهش دارو برای نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S در دمای  $37^\circ\text{C}$  و دو pH ۴/۷ و ۴/۵ در طول سه‌شنبه روز است. همان‌طور که پیداست برای هر دو نمونه، رهش دارو در شرایط

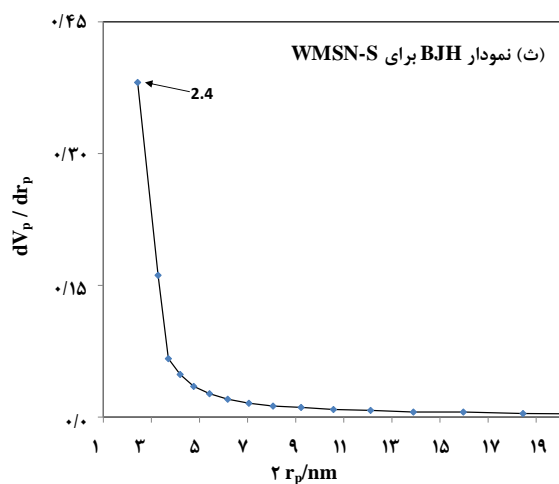
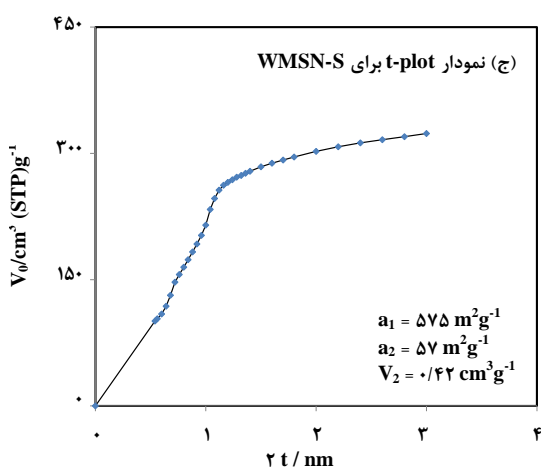
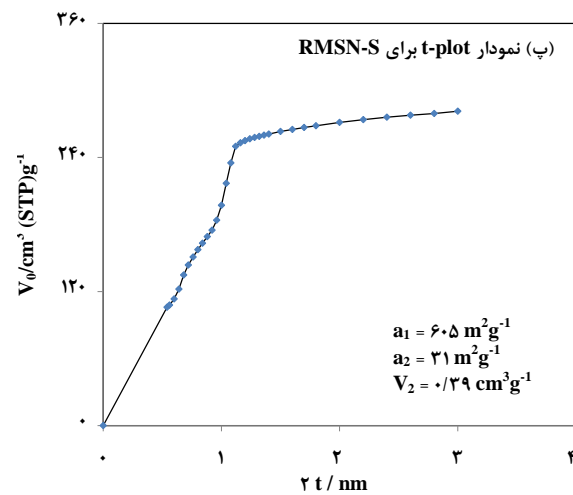
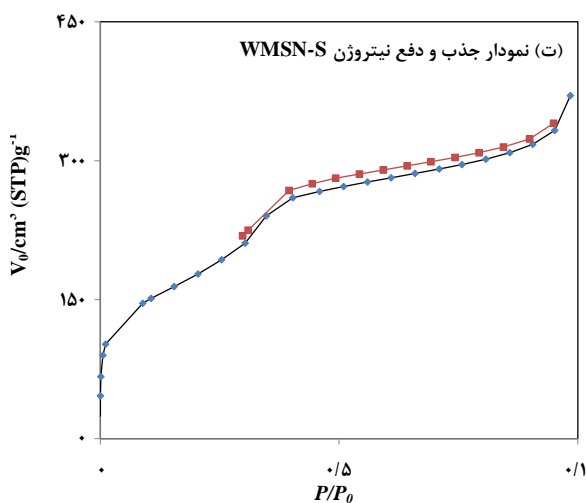
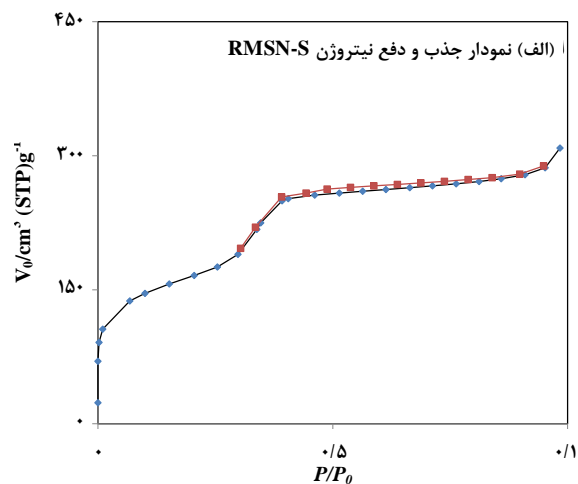
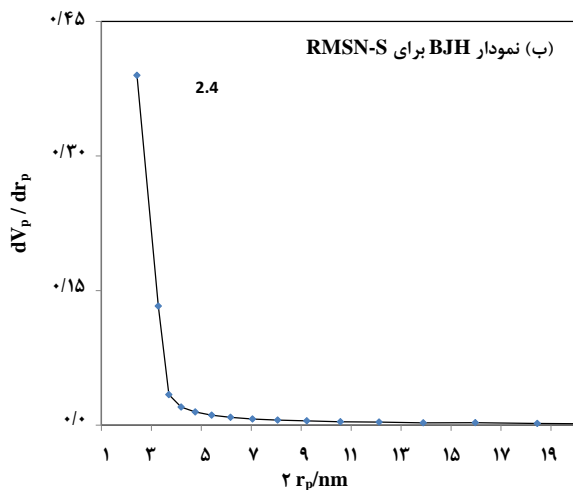
اندازه‌گیری‌شده برای نانوحامل‌ها از قبیل متوسط حجم حفره‌ها به ترتیب  $5/0 \text{ cm}^3/\text{g}$  و  $6/0 \text{ cm}^3/\text{g}$  و مساحت سطح ویژه به ترتیب ۷۴۱ و  $630 \text{ m}^2/\text{g}$  برابر بودند. همچنین، مساحت سطح داخلی به دست آمده از t-plot برای نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S برابر با ۶۰۵ و  $575 \text{ m}^2/\text{g}$  و مساحت سطح خارجی نانوحامل‌ها به ترتیب برابر با ۳۱ و  $57 \text{ m}^2/\text{g}$  است. با توجه به متوسط حجم حفره‌ها و مساحت سطح ویژه بالا، این نانوذرات می‌توانند در کاربردهای پزشکی از جمله دارورسانی به سلول‌های سرطانی نقش بسزایی ایفا کنند.

#### ۴-۵ بررسی رفتار رهش داروی دوکسوروبیسین از نانوحامل‌ها

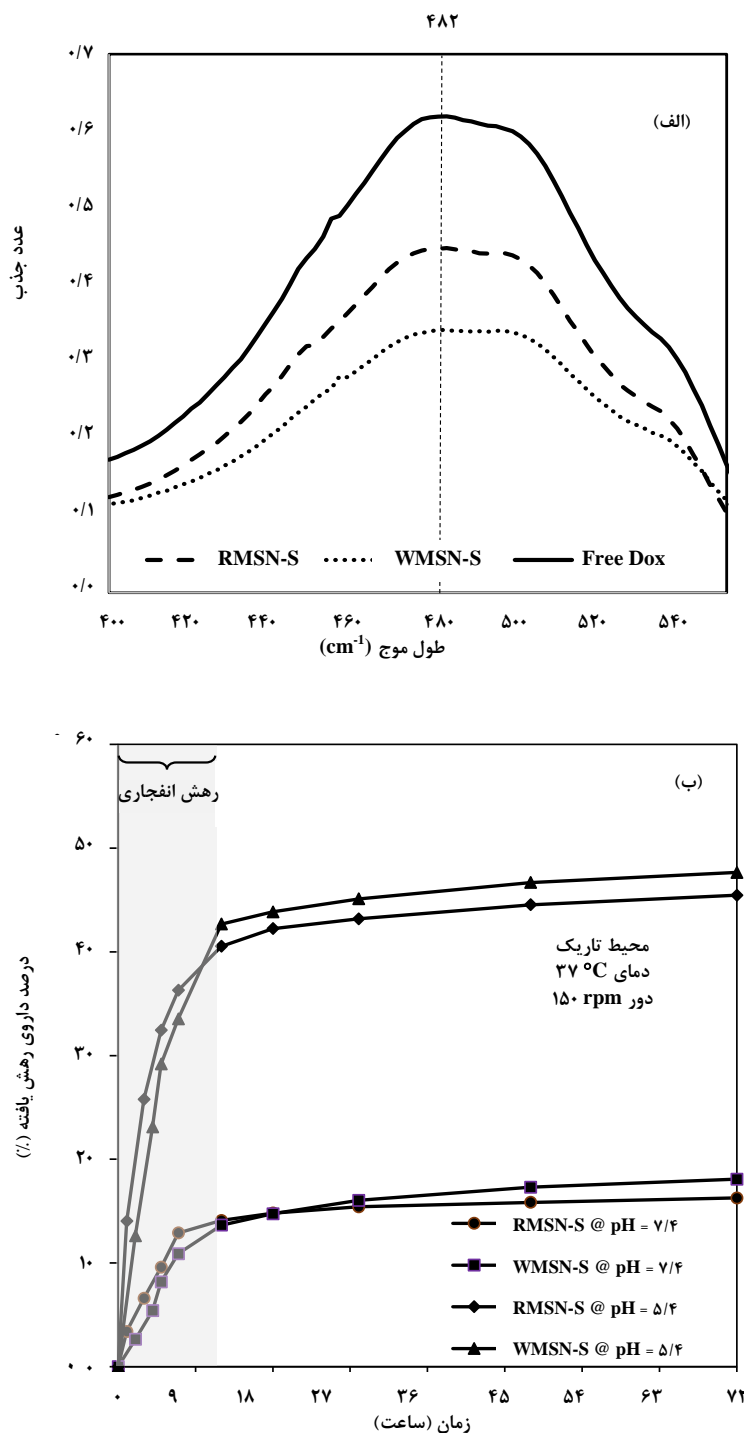
در این مطالعه، داروی دوکسوروبیسین به‌عنوان داروی ضد سرطان که برای درمان طیف وسیعی از سرطان‌ها کاربرد دارد، برای بررسی ظرفیت دارورسانی نانوحامل‌ها، انتخاب شده است. پس از بارگیری



شکل ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی برای نانوحامل‌های (الف) RSN، (ب) WSN، (پ) RMSN-S، (ت) WMSN-S و تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از (ث) RMSN-S، (ج) WMSN-S.



شکل ۴. ایزوترم‌های جذب و دفع گاز نیتروژن (الف و ت)، منحنی توزیع حفره‌ها (ب و ث) و t-plot (ت و ج) برای نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S.



شکل ۵. (الف) نمودار جذب داروی دوکسوروبیسین و (ب) منحنی رهش داروی نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S در دمای ۳۷°C و دو pH ۷/۴ و ۵/۴ در طول سه شبانه روز.

میزان به‌ترتیب به ۴۰ و ۴۲٪ افزایش پیدا کرده است. این رفتار به حلالیت داروی دوکسوروبیسین در pH های مختلف بستگی دارد. در pH های پایین‌تر به دلیل افزایش گروه‌های پروتون‌دار شده آمینو

اسیدی‌تر بیشتر است. در pH فیزیولوژیک بدن، درصد رهش داروی ۱۲ ساعت اولیه از نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S، به‌ترتیب، ۱۴ و ۱۲٪ بوده است. این در حالی است که در pH اسیدی‌تر این



نانوحامل‌هاست. همان‌گونه که در شکل (۵) - (ب) نیز مشاهده می‌شود، در طی ۴۸ ساعت به میزان ۴۴ و ۴۶٪ از داروی دوکسوروبیسین از نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S رهش یافته‌اند. در صورتی که سلول‌های تحت درمان با داروی دوکسوروبیسین آزاد، از ابتدا با حداکثر غلظت دارو روبرو بوده‌اند. در حالت کلی می‌توان نتیجه گرفت که نانوحامل‌های همنهشتی از منابع طبیعی دارای زیست‌سازگاری عالی‌اند و می‌توانند به‌عنوان یک سامانه دارورسان با بازدهی بالا در درمان سرطان به کار روند.

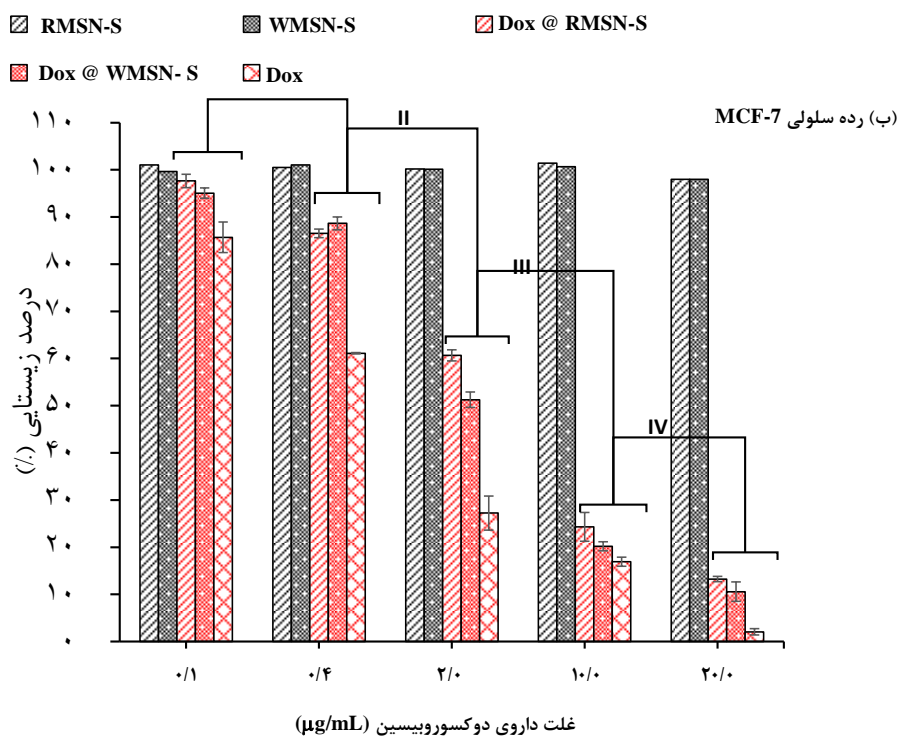
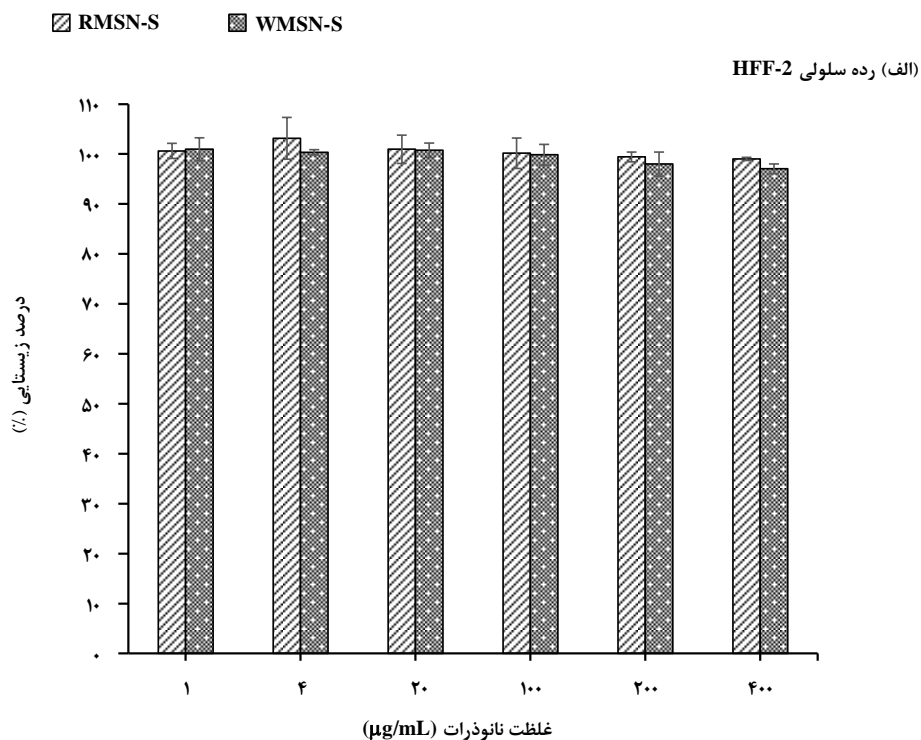
### ۵. نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه بر آن بودیم تا نانوذرات زیست‌سازگار و مقرون به صرفه مزومتخلخل سیلیکا را از منابع طبیعی هم‌چون سبوس برنج و گندم همنهشت کنیم. پس از استخراج سیلیکای موجود در سبوس‌ها، برای بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی و افزایش بازده دارورسانی، با تبدیل بایوسیلیکای استخراجی به محلول سدیم سیلیکات و با استفاده از سورفکتانت، تحت فرایند سل-ژل، نانوذرات با حفره‌های مزو تشکیل شدند. برای بررسی خاصیت دارورسانی، داروی ضد سرطان دوکسوروبیسین به‌عنوان داروی مدل انتخاب شد و رهش آن در دو مقدار pH متفاوت ۴/۷ و ۴/۵ بررسی شد. نانوحامل‌ها در شرایط اسیدی، درصد رهش بالاتری را از خود نشان دادند و این رفتار به دلیل تغییر حلالیت داروی دوکسوروبیسین در pHهای مختلف بود. بنابراین، با حبس این دارو در نانوحامل‌ها، در محیط‌های بازی دارو در داخل نانوحامل به دام می‌افتد ولی در محیط‌های اسیدی به راحتی در سامانه رهش می‌یابد. زیست‌سازگاری و سمیت نانوحامل‌ها با استفاده از روش MTT بر روی رده سلولی HFF-2 بررسی شد. نانوحامل‌ها هیچ گونه سمیتی روی سلول‌ها نداشتند و زیست‌سازگاری خوبی را از خود نشان دادند. با بررسی سمیت نانوحامل‌های بارگیری شده روی سلول‌های سرطانی، شاهد سمیت بالا و مهار رشد سلول‌های سرطانی بودیم. بنابراین، نانوحامل‌های تولیدی به دلیل اقتصادی بودن تولید و زیست‌سازگاری بالا، ظرفیت بزرگی در راستای توسعه روش‌های نوین دارورسانی دارند.

داروی دوکسوروبیسین، آب‌دوستی این دارو افزایش پیدا کرده، موجب نشر بیشتر و سریع‌تر دارو می‌شود [۲۷]. سرعت رهش دارو برای هر دو نمونه پس از ۱۲ ساعت کاهش می‌یابد و شاهد رفتار پایداری در رهش آن هستیم. پس از طی ۷۲ ساعت، درصد رهش دارو در pH فیزیولوژیک و بخش سرطانی برای نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S به ترتیب به ۱۶، ۴۵، ۱۸ و ۴۷٪ می‌رسد. بنابراین رفتار نمودارها برای هر دو نمونه تقریباً مشابه هم است و افزایش جزئی رهش در نمونه حاصل از سبوس گندم به دلیل بیشتر بودن قطر متوسط حفره‌هاست.

### ۴-۶ بررسی سمیت سلولی

برای ارزیابی زیست‌سازگاری نانوحامل‌ها بر روی سلول‌های طبیعی بدن، تجزیه MTT روی رده سلولی HFF-2 با غلظت نانوحامل‌ها از ۸/۰ تا ۴۰۰  $\mu\text{g/mL}$  طی ۴۸ ساعت به عمل آمد. همان‌طور که نتایج در شکل (۶) - (الف) آورده شده است، هیچ‌گونه سمیت قابل توجهی مشاهده نشده است و این به دلیل زیست‌سازگاری بالای نانوحامل‌های حاصل از منابع طبیعی است. هم‌چنین، شکل (۶) - (ب) نشان‌دهنده ظرفیت از بین بردن سلول‌های سرطانی با نانوحامل‌های خالی و نانوحامل‌های بارگیری شده با داروی دوکسوروبیسین، با ارزیابی میزان سمیت آن‌ها روی رده سلولی MCF-7 با غلظت‌های دوکسوروبیسین ۰/۸ تا ۲۰  $\mu\text{g/mL}$  طی ۴۸ ساعت است. همان‌گونه که در شکل (۶) - (ب) نمایان است، هیچ‌گونه سمیت قابل توجهی از جانب نانوحامل‌های خالی روی سلول‌های MCF-7 ایجاد نشده است؛ در صورتی که با بارگیری نانوحامل‌های RMSN-S و WMSN-S به وسیله داروی دوکسوروبیسین در غلظت ۲۰  $\mu\text{g/mL}$ ، درصد سلول‌های زنده در آن‌ها به ترتیب به ۱۳ و ۱۰٪ کاهش یافته‌اند که نتایج قابل قبولی را ارائه کرده است. هم‌چنین غلظت  $\text{IC}_{50}$  به دست آمده از نمونه‌های RMSN-S و WMSN-S بارگیری شده با دارو طی ۴۸ ساعت به ترتیب برابر با ۵/۲ و ۲  $\mu\text{g/mL}$  است که این مؤلفه برای داروی دوکسوروبیسین به تنهایی برابر با ۸/۰  $\mu\text{g/mL}$  است. علت کمتر بودن غلظت  $\text{IC}_{50}$  داروی دوکسوروبیسین نسبت به نانوحامل‌های همراه با دارو می‌تواند به دلیل رهش پایدار و مرحله به مرحله دارو از



شکل ۶. بررسی سمیت سلولی (الف) نانوحامل‌ها بر روی رده سلولی HFF-2 (ب) نانوحامل‌ها، نانوحامل‌های همراه دارو و خود دارو بر روی رده سلولی MCF-7 طی ۴۸ ساعت.

- [1] Ferrari, M., "Cancer nanotechnology: opportunities and challenges". *Nature reviews cancer*, 5, pp. 161-171, (2005).
- [2] Liao, J., Jia, Y., Wu, Y., Shi, K., Yang, D., Li, P., Qian, Z., "Physical-, chemical-, and biological-responsive nanomedicine for cancer therapy". *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 12, pp. e1581, (2020).
- [3] Narayan, R., Nayak, U., Raichur, A., Garg, S., "Mesoporous Silica Nanoparticles: A Comprehensive Review on Synthesis and Recent Advances". *Pharmaceutics*, 10, p. 118, (2018).
- [4] Slowing, I. I., Vivero-Escoto, J. L., Trewyn, B. G., Lin, V. S.-Y., "Mesoporous silica nanoparticles: structural design and applications". *Journal of Materials Chemistry*, 20, pp. 7924-7937, (2010).
- [5] Slowing, I. I., Vivero-Escoto, J. L., Wu, C. -W., Lin, V. S. -Y., "Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers". *Advanced drug delivery reviews*, 60, pp. 1278-1288, (2008).
- [6] Souza, K., Ardisson, J., Sousa, E., "Study of mesoporous silica/magnetite systems in drug controlled release". *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20, p. 507, (2009).
- [7] Ke, J., Wang, Y., Wang, L., Yang, B., Gou, K., Qin, Y., Li, S., Li, H., "Synthesis and characterization of core-shell mesoporous silica nanoparticles with various shell thickness as indomethacin carriers: In vitro and in vivo evaluation". *Microporous and Mesoporous Materials*, 297, p. 110043, (2020).
- [8] Mishra, S., Rawal, A., Nebhani, L., "Imprinting the location of an in-built RAFT agent and selective grafting of polymer chains inside or outside the pores of mesoporous silica nanoparticles". *Microporous and Mesoporous Materials*, 294, p. 109898, (2020).
- [9] Slowing, I. I., Trewyn, B. G., Giri, S., Lin, V. Y. J. A. F. M., "Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery and biosensing applications". 17, pp. 1225-1236, (2007).
- [10] Gao, Y., Xiao, Y., Mao, K., Qin, X., Zhang, Y., Li, D., Zhang, Y., Li, J., Wan, H., He, S., "Thermoresponsive polymer-encapsulated hollow mesoporous silica nanoparticles and their application in insecticide delivery". *Chemical Engineering Journal*, 383, p. 123169, (2020).
- [11] Elgawady, Y., Ponnamma, D., Adham, S., Al-Maas, M., Ammar, A., Alamgir, K., Al-Maadeed, M. A. A., Hassan, M. K., "Mesoporous silica filled smart super oleophilic fibers of triblock copolymer nanocomposites for oil absorption applications". *Emergent Materials*, pp. 1-12, (2020).
- [12] Le, N. H., Hajjar-Garreau, S., Bonne, M., Megías-Sayago, C., Louis, B., Lebeau, B., Balan, L., "Photo-induced generation of size controlled Au nanoparticles on pure siliceous ordered mesoporous silica for catalytic applications". *Microporous and Mesoporous Materials*, 295, p. 109952, (2020).
- [13] Alam, Q., Hendrix, Y., Thijs, L., Lazaro, A., Schollbach, K., Brouwers, H., "Novel low temperature synthesis of sodium silicate and ordered mesoporous silica from incineration bottom ash". *Journal of Cleaner Production*, 211, pp. 874-883, (2019).
- [14] Lazaro, A., Quercia, G., Brouwers, H., Geus, J., "Synthesis of a green nano-silica material using beneficiated waste dunites and its application in concrete". *World journal of nano science and engineering*, pp. 41-51, (2013).
- [15] Tong, K. T., Vinai, R., Soutsos, M. N., "Use of Vietnamese rice husk ash for the production of sodium silicate as the activator for alkali-activated binders". *Journal of cleaner production*, 201, pp. 272-286, (2018).
- [16] Chen, H., Wang, W., Martin, J. C., Oliphant, A. J., Doerr, P. A., Xu, J. F., DeBorn, K. M., Chen, C., Sun, L., "Extraction of lignocellulose and synthesis of porous silica nanoparticles from rice husks: a comprehensive utilization of rice husk biomass". *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1, pp. 254-259, (2013).
- [17] Naqvi, J., Shah, F., Mansha, M., "Extraction of amorphous silica from wheat husk by using KMnO<sub>4</sub>". *Journal of Faculty of Engineering & Technology*, 18, pp. 39-46, (2011).
- [18] Renuka, N., Praveen, A., Anas, K., "Influence of CTAB molar ratio in tuning the texture of rice husk silica into MCM 41 and SBA-16". *Materials Letters*, 109, pp. 70-73, (2013).
- [19] Jang, H. T., Park, Y., Ko, Y. S., Lee, J. Y., Margandan, B., "Highly siliceous MCM-48 from rice husk ash for CO<sub>2</sub> adsorption". *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 3, pp. 545-549, (2009).
- [20] La-Salvia, N., Lovón-Quintana, J. J., Lovón, A. S. P., Valença, G. P., "Influence of aluminum addition in the framework of MCM-41 mesoporous molecular sieve synthesized by non-hydrothermal method in an alkali-free system". *Materials Research*, 20, pp. 1461-1469, (2017).
- [21] Wongsawang, C., Keawnuch, B., Busabok, C., "The Effect of Calcination Temperature on Crystal Structure of (Al, Cr)<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Solid Solution". *Science and Technology RMUTT Journal*, 9, pp. 66-70, (2019).

- [22] Yan, F., Jiang, J., Chen, X., Tian, S., Li, K., "Synthesis and characterization of silica nanoparticles preparing by low-temperature vapor-phase hydrolysis of  $\text{SiCl}_4$ ". *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53, pp. 11884-11890, (2014).
- [23] Xu, H., Zhang, H., Wang, D., Wu, L., Liu, X., Jiao, Z., "A facile route for rapid synthesis of hollow mesoporous silica nanoparticles as pH-responsive delivery carrier". *Journal of colloid and interface science*, 451, pp. 101-107, (2015).
- [24] Yildirim, A., Bayindir, M., "A porosity difference based selective dissolution strategy to prepare shape-tailored hollow mesoporous silica nanoparticles". *Journal of Materials Chemistry A.*, 3, pp. 3839-3846, (2015).
- [25] Zhao, W., Lang, M., Li, Y., Li, L., Shi, J., "Fabrication of uniform hollow mesoporous silica spheres and ellipsoids of tunable size through a facile hard-templating route". *Journal of Materials Chemistry*, 19, pp. 2778-2783, (2009).
- [26] Teng, Z., Wang, S., Su, X., Chen, G., Liu, Y., Luo, Z., Luo, W., Tang, Y., Ju, H., Zhao, D., "Facile synthesis of yolk-shell structured inorganic-organic hybrid spheres with ordered radial mesochannels". *Advanced Materials*, 26, pp. 3741-3747, (2014).
- [27] Hu, X., Wei, W., Qi, X., Yu, H., Feng, L., Li, J., Wang, S., Zhang, J., Dong, W., "Preparation and characterization of a novel pH-sensitive Salecan-g-poly (acrylic acid) hydrogel for controlled release of doxorubicin". *Journal of materials chemistry B.*, 3, pp. 2685-2697, (2015).