

سنتز دوکسوروبیسین نیوزومی آهسته رهش و بررسی دوز مؤثر دارو در نانو فرمول برای مقابله با سرطان مغز استخوان

سمیرا نادری نژاد^۱، فاطمه حقیر السادات^۲، قاسم عموآبدینی^{۳*}، سعیده رجائی نجف آبادی^۴، عظیم اکبرزاده^۴

۱ - گروه مهندسی بیوتکنولوژی و داروسازی، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲ - گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳ - گروه شیمی، دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران.

۴ - گروه پابلوت بوبیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: نیوزوم‌ها به دلیل نیمه عمر بالا در پلاسمای خون امکان رسانش مؤثر عوامل شیمی درمانی به بافت توموری را ایجاد می‌کنند و بازده درمانی داروی شیمی درمانی را افزایش می‌دهند. در این مطالعه نانو نیوزوم حاوی دوکسوروبیسین سنتز شدند. دوز بهینه دارو تعیین شد و اثر ضد سرطانی نانو ذره حاصل مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: نیوزوم‌های حاوی کلسترول و اسپن ۶۰ با نسبت مولی ۸۵:۱۵ با روش آب‌پوشانی لایه نازک تهیه گردیدند. در مرحله آب‌پوشانی به منظور تعیین غلظت بهینه دارو، غلظت‌های مختلف داروی دوکسوروبیسین رقیق شده با آب مقطر به کار گرفته شد. هم‌چنین در پایان سمیت سلولی با تست MTT سنجیده شد.

یافته‌ها: نتایج حاکی است دوز بهینه دارو ۰/۵ mg/ml است. درصد محصور سازی فرمولاسیون بهینه، سایز و شاخص پراکندگی به ترتیب ۸۱/۶۹، ۱۰۲/۹ و ۰/۱۲۸ می‌باشد. طی ۱۴۴ ساعت، میزان رهاسازی دارو ۳۵ درصد بوده است. سامانه تهیه شده می‌تواند عوارض جانبی دوکسوروبیسین را کم کند و در مقابل سلول‌های سرطانی مؤثر واقع شود.

بحث: این مطالعه نشان داد که دوز دارو در مقدار بهینه، نقش مهمی در بهبود درصد درون‌گیری دارو دارد که از نظر اقتصادی بهینه است هم‌چنین باعث می‌شود در مصرف بالینی، دوز کم‌تری دارو با بیش‌ترین اثر درمانی وارد بدن بیمار می‌شود. کاهش دوز مصرفی دارو هم‌چنین سبب می‌شود سلول‌های سالم کم‌تر مورد آسیب قرار گیرند. آهسته رهش بودن سامانه دلیل اصلی افزایش سمیت داروی شیمی درمانی است.

نتیجه‌گیری: سامانه نیوزومی تهیه شده سامانه‌ای آهسته رهش با سایز بسیار کم‌تر از ۱۵۰ نانومتر و درصد بالای محصورسازی دارو می‌باشد که می‌تواند جهت غلبه بر عوارض جانبی داروی دوکسوروبیسین آزاد استفاده شود. سامانه حاصل در مقابل سلول‌های سرطان مغز استخوان مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: دوز مؤثر، نیوزوم، دوکسوروبیسین، رهایش، سرطان مغز استخوان.

نویسنده مسئول:

گروه مهندسی بیوتکنولوژی و داروسازی، پردیس دانشکده‌های فنی،

دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

پست الکترونیکی: amoabedini@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۱

مقدمه

دوکسوروبیسین^۱ یکی از معمول ترین و شناخته شده ترین داروهای آنتی بیوتیک متعلق به خانواده آنتراسیکلین ها است و به عنوان عامل شیمی درمانی در جهت مبارزه علیه لوسمی ها و تومورها انسانی و حیوانی مورد استفاده قرار می گیرد (۲۰) با این حال پتانسیل درمانی آن با دوز مسمومیت قلبی و سرکوب مغز استخوان^۲ و عوارض جانبی نامطلوب محدود شده است. نتیجه این است که با توجه به بالا بودن سطح مسمومیت بافت های سالم، اغلب با یک شاخص درمانی محدود همراه است (۲۱). از این رو استفاده بالینی با تردید همراه است (۹). داکسیل اولین دوکسوروبیسین لیپوزومی تأیید شده FDA است که در حال حاضر مورد استفاده بالینی قرار می باشد (۱۶). به دلیل ناپایداری شیمیایی و فیزیکی لیپوزوم ها، نانونیوزوم ها مورد توجه بسیاری از محققان و شرکت های دارویی قرار گرفته است (۱۴).

نیوزوم ها امروزه به عنوان یکی از بهترین نانوذرات دارورسانی برای درمان سرطان می باشند که مزایای زیادی در مقابل به- کارگیری داروی آزاد دارند. سایز کوچک نیوزوم ها (کم تر از ۱۰۰ نانومتر)، پایداری بالا و نیمه عمر بالا در پلاسمای خون این امکان را برای رسانش عوامل شیمی درمانی به بافت توموری را ایجاد می کند. به دلیل این مزایا، استفاده از نانوذرات به طور قابل ملاحظه ای سمیت عوامل شیمی درمانی در برابر سلول های سالم را کاهش می دهد (۱۰).

نیوزوم ها وزیکول های تک لایه یا چند لایه می باشند که به- وسیله سورفکتانت های غیر یونی ساخته می شوند که توانایی محصورسازی داروهای آب دوست و آب گریز را دارند (۱). در توسعه یک فرمولاسیون جدید دارویی پایداری یک عامل تعیین کننده می باشند که هزینه های تولید صنعتی را کاهش می دهد. نیوزوم یک نانو ذره ارزان با پایداری بالا به عنوان جایگزین لیپوزم می باشد (۱۱).

از نظر ترمودینامیکی، نیوزوم های خود تشکیل شونده نتیجه کاهش آنتروپی و انرژی آزاد گیبس به همراه آنتالپی مطلوب است که از فعل انفعال های وندروالس، نیروهای هیدروفوبیک، پیوند هیدروژنی و نیروهای الکتروستاتیک به وجود می آید. عوامل هندسی مثل لایه آبی، طول زنجیره لیپیدی، گیر افتادگی و به هم فشردگی زنجیره ای و تقارن غشاء نقش مهمی در تشکیل خود به خودی دوگانه دوست نقش دارد. گزارش شده است نیروی محرکه اصلی در محصور سازی دارو، پیوند هیدروژنی یا نیروهای الکتروستاتیک بین حامل نیوزومی و مولکول داروی می باشد (۱۵).

در پژوهش های متعددی محصور سازی داروی دوکسوروبیسین در نانو ذره نیوزومی مورد بررسی قرار گرفته است. ایچامه و همکاران در سال ۱۹۹۵، بهبود فعالیت داروی دوکسوروبیسین درون گیری شده در سامانه نیوزومی تهیه شده از اسپن ۶۰ را بر روی رده سلولی سرطان تخمدان انسانی بررسی نمودند (۱۶).

راجرسن و همکاران در سال ۲۰۱۱، وزیکول های ساخته شده از سورفکتانت های غیر یونی (تری گلیسرل اتر C₁₆) همراه و بدون کلسترل، حاوی دوکسوروبیسین تهیه کردند و توزیع و رهایش دوکسوروبیسین در بدن موش را به دنبال مصرف دارو بررسی کردند (۱۳). برگاگنیا و همکاران در سال ۲۰۱۲، فرمولاسیون نیوزومی حاوی دوکسوروبیسین عامل دار شده با قند مشتق شده از N- پالمیتیل گلوکوامین برای مورد هدف قرار دادن مغز برای رسانش عوامل شیمی درمانی را مورد بررسی قرار دادند (۲).

در پژوهش حاضر ضمن تهیه فرمولاسیون نیوزومی، برای اولین بار غلظت بهینه داروی آب دوست دوکسوروبیسین جهت درون- گیری در نانوذرات نیوزومی بررسی شده است. هم چنین الگوی رهایش دارو، شاخص پراکندگی، سایز و میزان درون گیری دارو مطالعه شده است. در ادامه سمیت سامانه حاصل بر روی رده سلول سرطانی مغز استخوان بررسی شده است.

مواد

¹ Doxorubicin

² Myelosuppression

نیوزومها که داخل ظرف یخ بودند، قرار داده شد و سپس فرآیند کاهش سایز (سونیکیت) جهت تولید نیوزومهای تک جداره با شرایط توان: ۶۰٪ (Amplitude) به مدت ۳۰ دقیقه (۱۰ ثانیه روشن و ۱۵ ثانیه خاموش) انجام گردید (E-Chrome Tech Co, Taiwan). پس از این مرحله جداسازی داروی آزاد توسط کیسه دیالیز (Sigma, 12-14 kDa, cut off: Germany) در دمای ۴ درجه سانتیگراد و تحت شرایط تاریک صورت گرفت.

مشخصه یابی فرمولاسیون نیوزومی حاوی دوکسوروبیسین

بازده محصور سازی دوکسوروبیسین درون نیوزوم:

دوکسوروبیسین درون گیری شده در نیوزومها داخل کیسه دیالیز سلولزی قرار داده شدند تا دارویهای آزاد آن جدا شود. مقدار دوکسوروبیسین انکپسوله شده درون نیوزومها با استفاده از UV Spectrophotometer (T80+ Model, PG Instruments) در طول موج ۴۸۰ nm بعد از هضم و شکستن غشای نیوزومی با ایزوپروپانول (خلوص ۹۹٪) مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین نمودار استاندارد دوکسوروبیسین در ۴۸۰ nm به منظور تعیین رابطه میان غلظت دوکسوروبیسین و جذب آن با استفاده از سری رقت دوکسوروبیسین در محلول ایزوپروپانول رسم گردید. بازده درون گیری از رابطه (۱) محاسبه می شود.

رابطه (۱)

$$100 \times \frac{\text{میلی گرم داروی کیسول شده}}{\text{میلی گرم داروی اولیه}} = \text{بازده درون گیری}$$

اندازه گیری اندازه ذرات و شاخص پراکندگی: ۱۰۰

پارامتر قطر هیدرودینامیک نیوزوم (اندازه ذرات) با استفاده از تکنیک پراش لیزری دینامیک (Zeta-Sizer instrument, DLS, Malvern Zetasizer Nano-ZS, Worcestershire, UK) اندازه گیری شدند. همچنین، میانگین شاخص پراکندگی (PDI) نانوذرات مشخص شدند. نیوزوم تازه آماده شده دارای شاخص انکساری ۱/۳۳، ویسکوزیته و ثابت دی الکتریک به-ترتیب ۷۸/۵۴، ۰/۸۹ CP می باشند.

دوکسوروبیسین هیدروکلراید (داکس) از Ebewe Pharma اتریش خریداری شد. سورفکتانت اسپن ۶۰ از Daejung chemicals & metals Co، کره تهیه شدند. کلسترول از شرکت Sigma Aldrich آمریکا خریداری گردید. حلالهای مورد استفاده دیگر در این مطالعه دارای درجه خلوص بالا و مخصوص انجام پژوهش^۳ (خلوص بیش از ۹۹ درصد) بوده و بدون خلوص بیش تر استفاده شدند.

روش ها

فرمولاسیون نیوزوم حاوی دوکسوروبیسین

نیوزومها با فرمولاسیون ارائه شده در جدول ۱ طبق روش آبپوشانی لایه نازک تهیه گردیدند.

جدول ۱- فرمولاسیون نیوزومی حاوی دوکسوروبیسین

کد فرمول	لیپید: دارو	غلظت دارو (mg/ml)	کلسترل: سورفکتانت
F1	۱۰	۱/۵	۸۵:۱۵
F2	۱۰	۱	۸۵:۱۵
F3	۱۰	۰/۵	۸۵:۱۵

به طور خلاصه، کلسترول و اسپن ۶۰ با نسبت مولی ۸۵:۱۵ و نسبت کل لیپید به دارو (L/D) ۱۰ در کلروفرم در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد حل شدند. پس از تبخیر کامل کلروفرم و تشکیل فیلم نازک، هیدراته کردن فیلم در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و به مدت ۶۰-۳۰ دقیقه و توسط داروی دوکسوروبیسین ۲ mg/ml رقیق شده با مقادیر مختلف آب استریل تزریقی صورت گرفت. در این مرحله غلظت های مختلف دارو به عنوان پارامتر کمی و کیفی مورد استفاده قرار گرفت تا اثر غلظت مولکول های دوکسوروبیسین در تماس با لایه های نیوزومی بر روی درصد محصور سازی، سایز، زتا و شاخص پراکندگی بررسی گردد. تمامی مراحل همگن کردن و حل کردن فرمولاسیون نیوزومی، تشکیل فیلم و هیدراته کردن دارو به وسیله دستگاه روتاری تبخیر کننده (Heidolph, Germany) صورت گرفت. پس از تشکیل وزیکول های نیوزومی حاوی دوکسوروبیسین برای کاهش اندازه نیوزوم-های MLV و تشکیل SUV از روش سونیکاسیون استفاده گردید، پروب دستگاه سونیکه کننده در داخل محلول کلئیدی

³ Analytic grade

بررسی آزمایشگاهی رهایش دوکسوریبوسین:

رهایش دوکسوریبوسین از نیوزوم ها به وسیله دیالیز (MW cut 12 kDa, off=) در برابر PBS به مدت ۱۴۴ ساعت در دمای ۳۷ و pH ۷/۵ مورد سنجش قرار گرفت. به منظور محاسبه رهایش دوکسوریبوسین، بافر اطراف کیسه دیالیز در زمان های متفاوت جمع آوری و بلافاصله با همان حجم از PBS تازه جایگزین شد. نمونه ها با استفاده از UV Spectrophotometer در طول موج ۴۸۰ nm آنالیز شدند. بر اساس کل غلظت اولیه داروی فرمولاسیون نیوزومی، درصد رهایش در هر فاصله زمانی محاسبه شد.

تعیین سمیت سلولی

سلول های KG-1 از انستیتو پاستور ایران (تهران، ایران) تهیه شدند. سلول ها در انکوباتور در دمای ۳۷ °C و محیط حاوی ۵ درصد کربن دی اکسید و هوای مرطوب در محیط کشت DMEM (گیکو، آمریکا) غنی شده با سرم ۱۰٪ جنینی گاوی رشد کردند. سمیت سلولی با روش MTT برای فرمولاسیون مطالعه شده به کار گرفته شد. به منظور اندازه گیری سمیت، سلول های KG-1 سرطان مغز استخوان به طور جداگانه با غلظت ۱۰^۴ در هر چاهک در پلیت ۹۶ تایی به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس سلول ها با حجم یکسانی از محیط کشت تازه تیمار شدند (حجم یکسانی از محیط کشت تازه اضافه شد) و غلظت های متفاوتی از داروی دوکسوریبوسین آزاد و نیوزوم حاوی دوکسوریبوسین (۱، ۲/۵ و ۵ میکروگرم بر میلی لیتر) به صورت چهار بار تکرار در چاهک ها تزریق شدند. پس از آن دوباره به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس میزان ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر به هر چاک اضافه شد و به مدت ۳ ساعت انکوبه شدند. بعد از آن مایع رویی خارج شد و به منظور حل کردن کریستال های فورمازون ۱۸۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید. در هر مرحله برای خارج کردن مایع رویی، سانتریفوژ صورت گرفت. جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر میکروپلیت اپوک (بایوتک، آمریکا) ثبت گردید.

آزمون های آماری

تمامی آزمایش ها به صورت سه بار تکرار صورت گرفت. سطح معنی داری آماری (p-value) متغیرهای مورد بررسی به وسیله one-way ANOVA نرم افزار Graph Pad Prism (GraphPad Software, CA, USA) تعیین گردید.

یافته ها

پس از ساخت سه فرمولاسیون نیوزومی، هیدارته کردن با سه غلظت مختلف دارو صورت می گیرد و مقایسه سه فرمول ارائه شده از نظر درصد محصور سازی دارو، سایز و شاخص پراکندگی صورت گرفته است. نتایج حاکی از این است با کاهش غلظت داروی مورد استفاده در میزان یکسان نانوذرات بازده محصور سازی دارو افزایش یافته است، سایز نانوذرات و شاخص پراکندگی آن ها کاهش یافته است. بر این اساس کاهش غلظت دارو هم از جهت کاهش مصرف دارو اقتصادی است و هم از جهت افزایش محصور سازی دارو به صرفه است.

جدول ۲- مقایسه فرمولاسیون های مختلف نیوزومی حاوی دوکسوریبوسین

کد فرمول	محصور سازی دارو (%)	سایز (nm)	شاخص پراکندگی (PDI)
F1	۶۷/۲۴	۱۵۱/۲	۰/۹۹۲
F2	۷۴/۴۱	۱۴۵/۶	۰/۹۳۳
F3	۸۱/۶۹	۱۰۲/۹	۰/۹۲۸

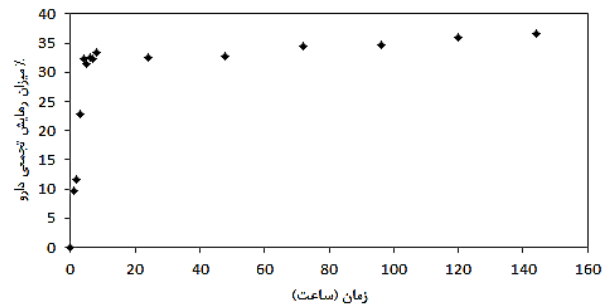
با کاهش شاخص پراکندگی نانوذرات، با افزایش دوز دارو، توده ای شدن نانوذرات کاهش می یابد و در مقایسه با سایر فرمول ها در دراز مدت پایداری بیش تری را برای نانوذرات فراهم می کند. شکل ۱- نمودار رهایش دارو در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و pH= ۷/۴ (شرایط فیزیولوژیک) را نشان می دهد. با بررسی پروفایل رهایش ۱۴۴ ساعته دارو یافت می شود فرمولاسیون تهیه شده آهسته رهش می باشد و طی ۱۴۴ ساعت ۳۵ درصد از داروی محصور سازی شده رها می شود و پس از آن دارو به کندی آزاد می شود.

سرطان به عنوان مجموعه ای از بیماری هایی شناخته می شود که از اختلال های ژنتیکی پیشرفته مشتق می شوند و هر ساله بیش از ده میلیون نفر از مردم سراسر دنیا به این بیماری کشنده مبتلا شده و بیش از نیمی از آن ها جان خود را در اثر سرطان از دست می دهند.

روش های درمانی فعلی برای سرطان به ویژه برای بیماری های متاستاز اغلب به اندازه کافی مؤثر نیست. سمیت درمانی ایجاد شده در اثر استفاده از داروهای شیمی درمانی در بخش های مختلف بدن باعث بروز بسیاری از عوارض جانبی مضر در بیماران شیمی درمانی می شود که اثر بخشی محدود دارد ولی در همان حال کیفیت زندگی فرد بیمار را کاهش می دهد و او را تحت تأثیر عوارض دردناک شیمی درمانی قرار می دهد. پوشش دار کردن داروی شیمی درمانی به وسیله نانوذرات مختلف منجر می شود که داروی مورد استفاده فقط در بافت مورد نظر رها شود و اثر شیمی درمانی ناشی از در معرض قرار گرفتن داروی ضد سرطان با سلول های سالم را تا حد زیادی کاهش می دهد (۱۲).

لیپوزوم ها وزیکول های فسفولیپید کروی چند لایه هستند که زیست سازگاری و توانایی درون گیری هم زمان چند دارو با طبیعت آب دوستی متفاوت از ویژگی های بارز آن ها است ولی با این حال ناپایداری و حجم کم داروی بارگذاری شده در آن ها از مشکلات مربوط به این نانوذرات است. نیوزوم ها پیشنهاد خوبی برای جایگزینی و پوشش دادن مشکلات مربوط به لیپوزوم ها است چرا که نیوزوم ها ساختاری شبیه لیپوزوم دارند ولی بسیار پایدار هستند و توانایی درون گیری حجم زیادی دارو به صورت هم زمان را دارند (۱۰).

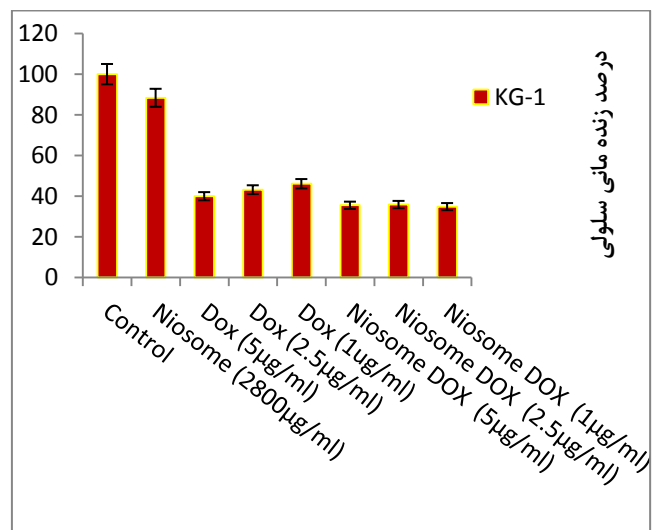
علی رغم این که سامانه های در مقیاس میکرو می توانند از داروها در برابر تجزیه به خوبی محافظت کنند و اثر جانبی دارو را کم می کنند ولی به طور کلی فعالیت ضد سرطانی آن ها را افزایش نمی دهند. در حالی که سیستم تحویل در مقیاس نانو به دلیل دارا بودن اندازه کوچک تر از سلول، قادر است مکانیسم های غیرفعال جذب سلولی را تقویت کرده و به دنبال آن موجب کاهش مقاومت انتقال جرم و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی شود. افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی داروها به هنگام



شکل ۱- رهایش ۱۴۴ ساعته داروی دوکسوروبیسین در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، pH= ۷/۴ و درون محیط بافری.

بررسی سمیت سلولی

سمیت نانوذرات نیوزومی بدون دارو، داروی آزاد دوکسوروبیسین و نانوذرات همراه با دوکسوروبیسین بر روی رده سلولی سرطان مغز استخوان KG-1 به مدت ۷۲ ساعت بررسی شد (شکل-۲). همان طور که از نتایج بر می آید نانوذرات همراه با دارو سمیت بیشتری دارند و به طور مؤثرتری در از بین بردن سلول های سرطانی عمل کرده اند (p-value < ۰/۰۵). هم چنین نتایج حاکی از این است که سمیت داروی دوکسوروبیسین در حالت آزاد و محصور وابسته به دوز دارو است و با افزایش دوز دارو، سمیت افزایش یافته است.



شکل ۲- مقایسه درصد زنده ماندن با دوکسوروبیسین آزاد و دوکسوروبیسین محصور شده.

بحث

انکپسوله شدن در سیستم‌های تحویل لیپوزومی و نیوزومی مؤید این مطلب است.

نانو تکنولوژی راه حل خوبی است برای پوشش دار کردن دارو-های شیمی درمانی در مقیاس نانو است. چرا که ذرات در مقیاس نانو انرژی سطحی آن‌ها تغییر می‌کند. ذرات دارویی در سایز کمتر از ۱۵۰ نانومتر می‌توانند از غشای سلول بگذرند، وارد سلول شوند و اثر مفید دارویی به حداکثر برسد (۱۲).

یکی از فاکتورها در تشکیل نیوزوم‌ها، سورفکتانت‌ها هستند. رایج‌ترین نوع سورفکتانت مورد استفاده در آماده‌سازی ویزیکول‌ها، سورفکتانت‌های غیریونی به دلیل داشتن استحکام، سازگاری بهتر و سمیت پایین است. استفاده از سورفکتانت‌های غیریونی به‌طور کلی با افزایش تجمع دارو، افزایش نفوذپذیری، کاهش کشش سطحی، کاهش اندازه ذرات و از همه مهم‌تر پایداری دارو همراه است. یک نوع از این سورفکتانت‌ها که در این تحقیق استفاده شد، استراسیدچرب سوربیتان است که با نام اسپن ۶۰ شناخته شده‌اند. دمای انتقال فاز نقش حیاتی در میزان بارگذاری بازی می‌کند. دمای انتقال فاز بالای اسپن ۶۰ هم باعث سرعت کم‌تر هیدراته شدن در مرحله آبیوشی شد و هم باعث کاهش سرعت رهایش دارو شد و سامانه پایداری را فراهم می‌سازد (۱۴).

زنجریر سفت و محکم کلسترول در ساختار، لیپوزوم و نیوزوم را پایداری و محکم می‌کند، بنابراین بازده درون‌گیری را افزایش می‌دهد، اما هم‌زمان میزان تحرک و رهایش دارو را به‌خصوص در کوتاه‌مدت افزایش می‌دهد که در تضاد با هدف رهاسازی کنترل شده دارو است. طبق گزارش‌های موجود، قطر متوسط لیپوزوم‌ها همراه با افزایش محتوای کلسترولی افزایش یافته است (۷).

غلظت‌های پایین کلسترول، تسهیل کننده نفوذ غشایی است که منجر به ورود زیاد دارو از طریق غشای لیپیدی می‌شود اما در حین مراحل آماده سازی میزان نشت دارویی را تیز بالا می‌برد. این امر میزان درون‌گیری نهایی دارو را پایین می‌آورد. در غلظت‌های بالای کلسترول، زنجریره آسپل محدود کننده آزادی حرکت زنجریره است بنابراین ورود دارو به غشا با محدودیت روبه‌رو است این پدیده بازده درون‌گیری را کاهش می‌دهد.

کلسترول پایداری درون تن و برون تن نانوذرات برپایه لیپید را افزایش می‌دهد (۱۸).

تجزیه و تحلیل سینتیک نشان داد که رهایش دارو از سه مکانیسم پیروی می‌کند؛ حل شدن آهسته دوکسوریبوسین رسوب کرده درون نیوزوم، انتقال داروها از درون نیوزوم درون بافر خارجی به ترتیب طبق مکانیسم‌های انتشار و جابه‌جایی (به‌خاطر لرزش خفیف شیکر) صورت می‌پذیرند. از آنجا که مولکول دوکسوریبوسین کوچک هستند، رهایش آهسته دارو به خاطر محدودیت عبور دارو از کیسه دیالیز نیست بلکه به‌خاطر خود غشا و ممانعت آن در مقابل رهایش به یک‌باره دارو است. به‌همین دلیل رهایش دارو ۱۴۴ ساعت به طول می‌انجامد (۵).

همان‌طور که از نتایج بر می‌آید گرچه پوشش دار کردن دارو می‌تواند به افزایش سمیت دارو در مقابل سلول سرطانی کمک کند، و در نتیجه سمیت در برابر سلول سالم نیز در صورت پوشش دار شدن افزایش می‌یابد بنابراین استراتژی هدفمندی اختصاصی یک امر ضروری است. داروی آزاد به خاطر کوچک بودن اندازه ذره به وسیله نفوذ از غشای سلول عبور می‌کند و جذب یک‌باره غلظت بالای دارو درون سلول منجر به در معرض قرار گرفتن سایر بخش‌های سلول می‌شود. گرچه استراتژی رهایش کنترل شده، خارج شدن داروی دوکسوریبوسین از نیوزوم محدود می‌شود ولی نفوذ تدریجی درون سلول و در معرض قرار دادن همه سلول‌ها در دراز مدت رخ می‌دهد (۳).

غلظت دارو مساله مهمی است اتخاذ کردن غلظت بهینه دارو علاوه بر این که در صرفه جویی اقتصادی نقش مهمی دارد بلکه باعث کنترل سمیت سامانه می‌شود (۱۹). غلظت بالای دارو گرچه گرادیان غلظت بالایی برای نفوذ به درون نیوزوم در مرحله آب‌پوشانی فراهم می‌کند ولی حجم سامانه محدود است و نمی‌تواند در هر حدی با غلظت افزایش یافته روبرو شود. افزایش سایز نانوذرات همراه با افزایش دوز دارو به دلیل افزایش میلی گرم داروی کپسول شده در این ذرات می‌باشد.

یکی از نقطه ضعف‌های رسانش داروی ضدسرطان به کمک نانو ذرات، رهایش آهسته دارو می‌باشد. که گرچه این مسأله خود به نوعی مزیت است به دلیل افزایش سمیت دارو، ولی به علت رهایش آهسته دارو انکپسوله شده از درون نانوذرات، ممکن

پژوهشگر پژوهشکده علوم تولید مثل استان یزد جهت همکاری های علمی تشکر می گردد.

است شیمی درمانی با شکست مواجه شود که آن هم به علت رسیدن دوز پایین تر از دوز کشنده به سلول های توموری است که این امر موجب پایداری دارویی سلول های سرطانی می شود. پایداری دارویی مکانیسم پیچیده ای دارد و احتمال دارد که افزایش بیان انتقال دهنده MDR در آن نقش داشته باشد. همراه سازی داروی شیمی درمانی با یک داروی گیاهی و یا ژن نقش مهمی در غلبه بر مقاومت چندگانه دارویی دارد (۱۷،۸،۴).

سمیت زیاد داروی محصور شده در مقایسه با داروی آزاد به دلیل آهسته رهش بودن سامانه طراحی شده است که منجر به افزایش سمیت داروی دوکسوروبیسین شده است. بر این اساس داروی دوکسوروبیسین با کپسوله شدن ضمن کاهش اثرات جانبی و کاهش متابولیسم در بدن، سمیت آن افزایش یافته است. براساس نتایج هم چنین یافت می شود که نانو ذره بدون دارو سمیت ناچیزی دارد که زیست سازگاری سامانه را تایید می کند.

نتیجه گیری

نتایج تأیید کننده این مساله هستند که فرمولاسیون نیوزومی بهینه آهسته رهش می باشد و به صورت کنترل شده داروی دوکسوروبیسین از سامانه رها می شود هم چنین غلظت بهینه دارو نسبت به سایر غلظت های مورد مطالعه در پژوهش حاضر کمترین مقدار می باشد که هم از نظر اقتصادی بهینه است و هم در مصرف بالینی، دوز کم تر دارو با بیشترین اثر وارد بدن بیمار می شود و در نتیجه سلول های سالم کم تر مورد آسیب دوکسوروبیسین با غلظت بالا می شوند.

سپاسگزاری

حمایت مالی پژوهش حاضر توسط مرکز رشد واحدهای فناوری بیوتکنولوژی پارک علم و فناوری استان یزد انجام شده است. از سرکار خانم دکتر فاطمه حکیمیان، پژوهشگر مرکز بیوفیزیک و بیوشیمی دانشگاه تهران جهت همکاری های علمی تقدیر و تشکر می گردد. از سرکار خانم دکتر فاطمه منتظری،

منابع

1. Baillie, A.J., Florence, A.T., Hume, L.R., Muirhead, G.T., Rogerson, A., 1985. The preparation and properties of niosomes—non-ionic surfactant vesicles. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 863–868.
2. Bragagni, M., Mennini, N., Ghelardini, C., Mura, P., 2012. Development and characterization of niosomal formulations of doxorubicin aimed at brain targeting. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 15, 184–196.
3. Haghirsadat, F., Amoabediny, G., Sheikhha, M.H., T. Forouzanfar, Helder, M., Zandieh-doulabi, B. A novel approach on drug delivery: Investigation of new nano-formulation of liposomal doxorubicin and biological evaluation of entrapped doxorubicin on various osteosarcomas cell lines, *Cell J.* 19 (2017) 55–65.
4. Haghirsadat, F., Amoabediny, G., Helder, M., Naderinezhad, S., Sheikhha, M.H., Forouzanfar, T., et al., A comprehensive mathematical model of drug release kinetics from nano-liposomes, derived from optimization studies of cationic PEGylated liposomal doxorubicin formulations for drug-gene delivery, *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.* (2017) 1–9.
5. Haghirsadat, F., Amoabediny, G., Sheikhha, M.H., Zandieh-doulabi, B., Naderinezhad, S., Helder, M., n.d. New liposomal doxorubicin nanoformulation for osteosarcoma : Drug release kinetic study based on thermo and pH sensitivity. *RSC Adv.*
6. Kedar, U., Phutane, P., Shidhaye, S., Kadam, V., 2010. Advances in polymeric micelles for drug delivery and tumor targeting. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* 6, 714–729. doi:10.1016/j.nano.2010.05.005
7. Liu, N., Park, H.-J., 2010. Factors effect on the loading efficiency of Vitamin C loaded chitosan-coated nanoliposomes. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 76, 16–19. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.09.041
8. Misra, R., Sahoo, S.K., 2011. Coformulation of doxorubicin and curcumin in poly (D, L-lactide-co-glycolide) nanoparticles suppresses the development of multidrug resistance in K562 cells. *Mol. Pharm.* 8, 852–866.
9. Mitra, S., Gaur, U., Ghosh, P.C., Maitra, A.N., 2001. Tumour targeted delivery of encapsulated dextran–doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. *J. Control. Release* 74, 317–323.
10. Moghassemi, S., Hadjizadeh, A., 2014. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: an illustrated review. *J. Control. Release* 185, 22–36.
11. Namdeo, A., Jain, N.K., 1999. Niosomal delivery of 5-fluorouracil. *J. Microencapsul.* 16, 731–740.
12. Peer, D., Karp, J.M., Hong, S., Farokhzad, O.C., Margalit, R., Langer, R., 2007. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat. Nanotechnol.* 2, 751–760. doi:10.1038/nnano.2007.387
13. Rogerson, A., Cummings, J., Willmott, N., Florence, A.T., 1988. The distribution of doxorubicin in mice following administration in niosomes. *J. Pharm. Pharmacol.* 40, 337–342.
14. Sahin, N.O., 2007. Niosomes as nanocarrier systems, in: *Nanomaterials and Nanosystems for Biomedical Applications*. Springer, pp. 67–81.
15. Sharma, V., Anandhakumar, S., Sasidharan, M., 2015. Self-degrading niosomes for encapsulation of hydrophilic and hydrophobic drugs: An efficient carrier for cancer multi-drug delivery. *Mater. Sci. Eng. C* 56, 393–400.
16. Uchegbu, I.F., Double, J.A., Kelland, L.R., Turton, J.A., Florence, A.T., 1996. The activity of doxorubicin niosomes against an ovarian cancer cell line and three in vivo mouse tumour models. *J. Drug Target.* 3, 399–409.
17. Xiao, W., Chen, X., Yang, L., Mao, Y., Wei, Y., Chen, L., 2010. Co-delivery of doxorubicin and plasmid by a novel FGFR-mediated cationic liposome. *Int. J. Pharm.* 393, 120–127.
18. Yitbarek, E., Emnet, 2010. Characterization and analytical applications of dye-encapsulated zwitterionic liposomes. *Ph.D. Diss.*
19. Zhang Y, Yang C, Wang W, Liu J, Liu Q, Huang F, Chu L, Gao H, Li C, Kong D, Liu Q. Co-delivery of doxorubicin and curcumin by pH-sensitive prodrug nanoparticle for combination therapy of cancer. *Scientific reports.* 2016 Feb 15;6:21225.
20. Zhao X, Chen Q, Liu W, Li Y, Tang H, Liu X, Yang X. Codelivery of doxorubicin and curcumin with lipid nanoparticles results in improved efficacy of chemotherapy in liver cancer. *International journal of nanomedicine.* 2015;10:257.
21. Zhao X, Chen Q, Li Y, Tang H, Liu W, Yang X. Doxorubicin and curcumin co-delivery by lipid nanoparticles for enhanced treatment of diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in mice. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2015 Jun 30;93:27-36.