NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.11/44 , 2021

Scan online to view this article

A new therapeutic approach for the treatment of breast cancer using synthesis of liposomes containing silybinin and their characterization

Mona Mohseni [1], Mahmood Dehghani Ashkezari[1], Milad Akhlaghi[2,3], Kazem Ansari[3], Bibi Fatemeh Haghirosadat[3,4*]

1. Medical Biotechnology Researching Center, Islamic Azad University, Ashkezar Branch, Yazd, Iran
2. Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3. Nano-Biotech Foresight Company Biotechnology Campus, Yazd Stem Cells and Regenerative Medicine Institute, Yazd, Iran
4. Medical Nanotechnology & Tissue Engineering Research Center, Yazd Reproductive Sciences Institute, Shahid Sadoughi Uviverstity of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract:

Aim and Background: Silybinin, one of the active pharmaceutical ingredients in some medical herbs, has been proven to have anti-cancer effects. The aim of this study was to synthesis and characterize lipid nano-carriers containing silybinin in order to breast cancer treatment.

Material and Methods: Lipid nanocarriers were synthesized using a thin film method and the drug was loaded on them. Then the physicochemical properties were evaluated using DLS, AFM and spectrophotometers and their toxicity was measured in comparison with the free form of the drug by MTT assay on BT-474 breast cancer cell line.

Results: The synthesized nano-system with a size of 113.2 nm, zeta potential of -22 ± 1.63 mV, slow release type with appropriate physicochemical properties improves the anti-cancer effects of drug on breast cancer cells.

Conclusion: The results of this study demonstrated that the synthesized system, in addition to having appropriate physicochemical properties, could improve anti-cancer effect of drug.

Key words: Breast cancer, liposome, silybinin, Encapsulation, Slow release, Iau Science.

Corresponding author:
Medical Nanotechnology & Tissue Engineering Research Center, Yazd Reproductive Sciences Institute, Shahid Sadoughi Uviverstity of Medical Sciences, Yazd, Iran
Email: Fhaghirosadat@gmail.com

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۱ - شماره۴۴ - پاییز ۱۴۰۰
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

رویکرد درمانی نوین جهت درمان سرطان پستان با استفاده از سنتز لیپوزوم‌های حاوی سیلی‌بینین و مشخصه‌یابی آن‌ها

مونا محسنی[۱]، محمود دهقانی اشکذری[۱]، میلاد اخلاقی[۲،۳]، کاظم انصاری[۳]، بی بی فاطمه حقیرالسادات[۳،۴*]

۱. مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اشکذر، یزد، ایران
۲. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۳. شرکت ریز زیست فناوران فردانگر، مرکز پزشکی بازساختی و سلول‌های بنیادی یزد، یزد، ایران
۴. مرکز نانو تکنولوژی و مهندسی بافت، پژوهشکده علوم تولید مثل یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: سیلی‌بینین از جمله مواد مؤثره موجود در برخی گیاهان، با خواص ضدسرطانی ثابت شده است. هدف از این مطالعه، ساخت و مشخصه‌یابی نانو حامل‌های لیپیدی حاوی سیلی‌بینین، جهت به‌کارگیری در درمان سرطان پستان است.

مواد و روش‌ها: نانو حامل‌ها لیپیدی با استفاده از روش فیلم نازک سنتز و دارو در آن بارگیری گردید. سپس ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی با استفاده از دستگاه‌های DLS، AFM و اسپکتروفتومتر بررسی و سمیت آن‌ها در مقایسه با فرم آزاد دارو به‌وسیله تست MTT بر روی سلول‌های سرطانی پستان رده BT-474 سنجش گردید.

یافته‌ها: سامانه سنتز شده با سایز ۱۱۳/۲ nm، پتانسیل زتای ۱/۶۳ mV ± ۲۲-، شاخص پراکندگی ۰/۱۶۱ با یکنواختی و شکل مناسب از نوع آهسته رهش بوده و سبب افزایش کارایی دارو در غلظت‌های مختلف بر روی سلول‌های سرطانی پستان رده BT-474 می‌شود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که سامانه سنتز شده علاوه‌بر داشتن خواص فیزیکوشیمیایی مناسب می‌تواند سبب افزایش عملکرد دارو بر روی سلول‌های سرطانی گردد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، لیپوزوم، سلی‌بینین انکپسولیشن، آهسته رهش،Iau Science .

مقدمه

در حال حاضر یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر در جهان بیماری سرطان است (۱). تخمین زده شده که در سال ۲۰۲۰، حدود ۱۵ میلیون مورد جدید از ابتلا به سرطان و حدود ۱۰ میلیون مورد مرگ و میر ناشی از سرطان گزارش خواهد شد (۲). سرطان پستان رایج‌ترین سرطان در میان زنان است. بر اساس آمارهای سازمان جهانی بهداشت از هر ۸ تا ۱۰ زن، یک نفر دچار سرطان پستان می‌شود. بر اساس آمارهای ایران، در کشور ما از هر ۱۰ تا ۱۵ زن، احتمال ابتلای یک زن به سرطان پستان وجود دارد، اما سن بروز سرطان پستان در زنان ایران دست کم یک دهه کم‌تر از زنان کشورهای توسعه یافته است. میانگین سن تشخیص سرطان پستان در کشورهای غربی، ۵۶ سال و در ایران ۴۵ سال است. سرطان پستان، دومین علت رایج مرگ ناشی از سرطان است (۳).

نویسنده مسئول:
مرکز نانوتکنولوژی و مهندسی بافت، پژوهشکده علوم تولید مثل یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
پست الکترونیکی: Fhaghirosadat@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۲

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

با توجه‌به پیچیدگی مکانیسم و وجود عوامل متعدد در ایجاد سرطان تاکنون درمان قطعی برای این بیماری یافت نشده است، اما امروزه از روش‌های درمانی مختلفی برای درمان سرطان پستان استفاده می‌شود. بدین سبب درمان‌های جدید هدفمند شده سرطان که منجر به اختصاصیت درمان تومور و کاهش سمیت شده است مورد بررسی قرار گرفته است (۴). در داروسازی مدرن تلاش‌های زیادی برای بهینه کردن عملکرد فارماکولوژیکی و کاهش اثرهای جانبی دارو انجام می‌شود و به‌علت جذب پایین دارو در بدن از نانو حامل‌های دارویی جهت کنترل رهایش دارو استفاده می‌شود. انواع حامل‌های مورد استفاده میسل‌ها، لیپوزوم‌ها و نیوزوم‌ها هستند. لیپوزوم‌ها به‌عنوان کیسه‌های لیپیدی دو لایه شناخته شده‌اند که مدل‌های ایده‌آلی از غشاءهای سلولی زیستی هستند که با به حداقل رساندن تأثیرهای مضر بر روی سلامتی سلول‌ها و بافت‌ها عمل می‌کنند (۵).

خار مریم با نام علمی *Silybum marianum* که با اسم مارتیغال و با نام‌های شناخته شده در جهان از قبیل نام انگلیسی خار شیری یا خار اسکاتلندی نیز شناخته می‌شود. دانه خار مریم، دارای به‌طور تقریبی ۴ تا ۶ درصد سیلی‌مارین و عصاره این گیاه حاوی ۸۰-۶۵ درصد سیلی‌مارین و ۲۰ تا ۳۵ درصد اسید چرب هستند. سیلی‌بینین که با نام سیلی‌بیتین نیز شناخته شده است ترکیب اصلی موجود در دانه عصاره الکلی گیاه خار مریم محسوب می‌شود و به‌طور تقریبی ۵۰-۷۰ این عصاره (سیلی‌مارین) را شامل می‌شود. سیلی‌بینین یک فلاونوئید از نوع فلاونولیگنان طبیعی است که با توجه‌به مطالعه‌های صورت گرفته، توانایی مهار رشد سرطان از طریق القای آپوپتوز در انواع سلول‌های سرطان و هم‌چنین سلول‌های اندوتلیالی که نشانگر اثرهای ضدرگزایی آن است را دارد اما مکانیسم مولکولی آن به‌خوبی مشخص نشده است. این ترکیب در بسیاری از رده‌های سلولی سرطانی از جمله سلول‌های سرطان پروستات، کولون، سینه و شش اثرهای درمانی نشان داده است. هرچند اثر این ماده در درمان سرطان به‌وضوح مشخص نیست اما اثر سیلی‌بینین در درمان سرطان به‌دلیل عملکرد ضد رادیکال آزاد و ضد رگزایی بودن آن است (۶). تاکنون در هیچ‌یک از مطالعه‌های انجام شده پیرامون این ترکیب اثر آن بر روی رده سلولی سرطان پستان مورد ارزیابی قرار نگرفته است. برای کاهش عوارض و افزایش کارایی عوامل شیمی درمانی از تکنولوژی‌های جدید استفاده می‌شود. از جمله این روش‌های نوین استفاده از نانو فناوری در حیطه پزشکی است یکی از اهداف نانو فناوری سوار کردن مولکول‌ها و داروها بر روی مواد حامل و سپس فرستادن و رها کردن آن‌ها به درون سلول است (۷).

از آنجایی‌که تاکنون پژوهش‌های انجام شده بر روی بارگذاری ماده مؤثره گیاه خار مریم، سیلی‌بینین، در نانو حامل‌های لیپیدی بسیار اندک بوده لذا در این پژوهش به بررسی و اثرگذاری نانوسامانه لیپیدی سلیبین بر روی رده سلولی سرطان BT-474 پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

داروی سیلی‌بینین به‌صورت پودر خاص سیلی‌بینین از شرکت Sigma (آمریکا)، کسترول و فسفاتیدیل کولین سویا از شرکت Merck (آلمان)، تهیه و خریداری گردید.

تعیین طول موج ماکسیموم و رسم نمودار استاندارد سیلی‌بین

با استفاده از تهیه محلول استوک سیلی‌بینین در حلال‌های ایزوپروپیل و PBS طول موجی که سیلی‌بین در آن بیش‌تر جذب در بازه ۲۰۰ تا ۷۰۰ را دارد به‌وسیله روش اسپکتروفتومتری تهیه گردید. برای رسم نمودارکالیبراسیون سیلی‌بینین، رقت‌های مشخص از سیلی‌بینین با حلال‌های ایزوپروپانول و PBS (Sigma، آمریکا) با استفاده از روش سری استاندارد تهیه و میزان جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Epoch، آمریکا) در طول موج ماکسیمم سیلی‌بین خوانش گردید و در ادامه نمودار کالیبراسیون سیلی‌بینین در ایزوپروپانول و PBS ترسیم و معادله خط و ضریب رگراسیون آن تعیین گردید. آزمایش‌ها با ۳ بار تکرار انجام گردید.

سنتز لیپوزوم های حاوی سیلی‌بینین

به‌منظور ساخت نانولیپوزوم‌های حاوی سیلی‌بینین از روش هیدراتاسیون لایه نازک استفاده گردید که خلاصه آن به‌شرح زیر است.

در ابتدا کلسترول و فسفاتیدیل کولین سویا (SPC) با نسبت های مطابق جدول ۱ در حلال کلروفرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بر روی روتاری (هایدولف، آلمان) حل کرده و

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

فیلم نازک تحت شرایط خلاء ساخته شد. هیدراتاسیون با اضافه کردن حجم مشخصی از بافر PBS در درمای $50^{\circ}C$ و به‌مدت ۱ ساعت انجام شد. به‌منظور کاهش اندازه ذرات از سونیکیت پروبی با توان اولترا سونیک ۱۰۰ وات و فرکانس KHz ۵٪ ± ۲۸ به‌مدت ۱ ساعت استفاده شد. در طول انجام فرآیند شرایط دمایی کنترل گردید تا از آسیب به نانو سامانه جلوگیری شود. به‌منظور حذف ناخالصی‌های موجود و جداسازی ذرات با سایز نامطلوب از سوسپانسیون حاوی نمونه، از روش فیلتراسیون استفاده گردید. برای جداسازی داروهایی که در لیپوزوم بارگذاری نشده و در محلول آزاد هستند از کیسه دیالیز استفاده شد.

جدول ۱ . نسبت‌ها و غلظت‌های مولی مورد استفاده در ساخت لیپوزوم

نسبت لیپید به سیلیبین	غلظت سیلیبینین (mg/mL)	کلسترول (٪ مولی)	SPC (٪ مولی)
L/D =۲۰	EC = ۰/۵	۳۰	۷۰

به‌منظور اندازه‌گیری میزان سیلی‌بینین درون‌گیری شده از حلال ایزوپروپیل استفاده شد. رقت‌های حجمی متفاوت از ایزوپروپیل- لیپوزوم حاوی سیلی‌بینین با تکرارهای سه‌تایی تهیه و جذب هرکدام با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید و تکرارپذیری داده‌ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه با استفاده از معادله خط به‌دست آمده از نمودار کالیبراسیون و با استفاده از رابطه زیر میزان انباشتگی سیلی‌بینین محاسبه گردد.

$$\text{میزان درون‌گیری (٪)} = \frac{\text{مقدار داروی بارگذاری شده}}{\text{مقدار داروی اولیه}} \times ۱۰۰$$

به‌منظور بررسی روند رهایش در شرایط برونتن از بافر PBS با pH خنثی ۷/۴ استفاده شد. بدین منظور میزان ۱ میلی-لیتر از سوسپانسیون نمونه، درون کیسه دیالیز منتقل گردید و کیسه دیالیز حاوی نمونه را در فالکون محتوی بافر PBS قرار داده و با ایجاد شرایط دمایی (دمای بدن $37^{\circ}C$) ستیرر می‌گردد و در فواصل زمانی متفاوت نسبت به نمونه‌برداری از محیط اطراف کیسه دیالیز اقدام و به‌همان نسبت بافر هم دما و تازه جایگزین گردید. سپس میزان جذب نمونه‌های برداشت شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و در انتها با بهره‌گیری از معادله خط به‌دست‌آمده از نمودار کالیبراسیون سیلی‌بینین در بافر PBS نسبت‌به اندازه‌گیری غلظت سیلی‌بینین در زمان‌های مختلف و رسم نمودار آن اقدام گردید.

مورفولوژی، اندازه و پتانسیل زتای نانوذرات برای اندازه‌گیری سایز ذرات و پتانسیل زتای نانوذرات از دستگاه زتا سایزر (شرکت مالورن، انگلستان) در دمای اتاق و تحت زاویه ۹۰ درجه استفاده شد.

به‌منظور بررسی مورفولوژی سطحی نانو ذرات (شکل، صافی و توده‌ایی شدن) میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) JPK0 instruments (Nanowizard II;، آلمان) استفاده گردید. چرا که در حال حاضر استفاده از روش‌های میکروسکوپی، از مهم‌ترین روش‌ها برای بررسی مورفولوژی نانوذرات است.

تعیین میزان زنده‌مانی سلول

رده سلولی در این مطالعه رده سلولی BT-474 سرطان پستان بود که از انستیتوی پاستور ایران تهیه گردید. سلول-ها درون فلاسک‌های mL ۷۵ ، ۱ بار مصرف کشت سلولی حاوی محیط کشت RPMI 1640 (Thermofisher – GIBCO،آمریکا) غنی شده با L- گلوتامین (۲ mM) به همراه سرم گاوی ۱۰٪ (FBS)، ۱٪ پنی سیلین - استرپتومایسین (U/mL ۱۰۰ پنی‌سیلین و µg/mL ۱۰۰ استرپتومایسین) در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO_2 ۵% و رطوبت ۹۵٪ کشت داده شدند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

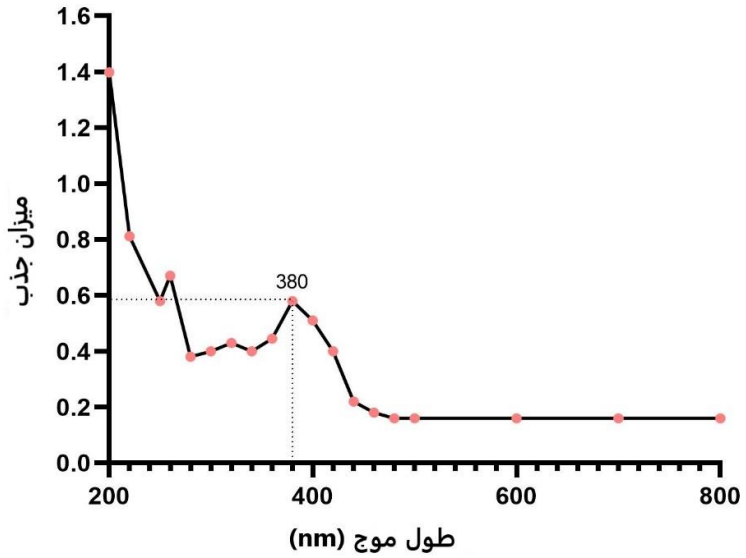
برای بررسی سمیت سامانه لیپیدی ساخته شده و تعیین درصد زنده‌مانی سلول‌ها از روش MTT استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری سمیت، سلول‌های BT-474 سرطان پستان به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ایی منتقل شده و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون سلول‌ها با لیپوزوم حاوی سیلی‌بینین و بدون سیلی‌بینین (با غلظت‌های µg/mL ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵) و هم‌چنین سیلی‌بینین آزاد (با غلظت‌های µg/mL ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵) در تکرارهای ۴ تایی، به‌مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند در ادامه میزان ۲۰ لاندا از محلول MTT با غلظت mg/mL ۵ آماده‌سازی شده با بافر PBS، اضافه گردید و انکوباسیون دوباره به‌مدت ۳ ساعت جهت متابولیزه کردن MTT برقرار گردید سپس پس از حذف محیط رویی، میزان ۱۸۰µl محلول DMSO جهت حل کردن کریستال‌های بنفش به چاهک‌ها اضافه می‌گردد. در انتها، جذب نوری در طول موج ۵۷۰nm و طول‌موج رفرنس ۶۳۰nm با استفاده از الایزا ریدر اندازه‌گیری و درصد زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از معادله زیر به‌دست آمد.

$$\text{میزان زنده‌مانی سلول‌ها (٪)} = \frac{\text{میانگین جذب نوری در محیط کشت –میانگین جذب نوری در گروه آزمون}}{\text{میانگین جذب نوری در محیط کشت–میانگین جذب نوری در گروه کنترل}} \times ۱۰۰$$

نتایج

تعیین طول موج ماکسیمم (λ_{max}) سیلی‌بینین

نمودار طیف جذبی سیلی‌بینین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در بازه ۲۰۰-۷۰۰ نانومتر تهیه و رسم گردید (نمودار ۱). بررسی این طیف نشان می‌دهد که سیلی‌بینین در طول موج ۳۸۰ نانومتر بیش‌ترین جذب را دارد.



نمودار ۱. نمودار جذب سیلی‌بینین در طول موج‌های مختلف. طول موج ۳۸۰ نانومتر به‌عنوان طول موج ماکسیموم در نظر گرفته شد.

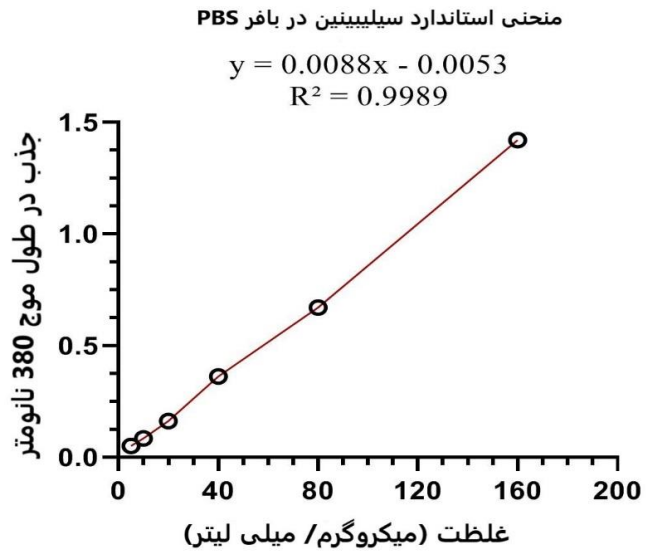
نمودار کالیبراسیون لیپوزوم حاوی سیلی‌بین در بافر PBS و ایزوپروپیل

نمودار استاندارد برای سیلی‌بینین در حلال PBS خطی راست با معادله $Y= 0.0088X - 0.0053$ است که دارای ضریب تعیین (R^2)، ۰/۹۹۸۹ است (نمودار ۲). این معادله

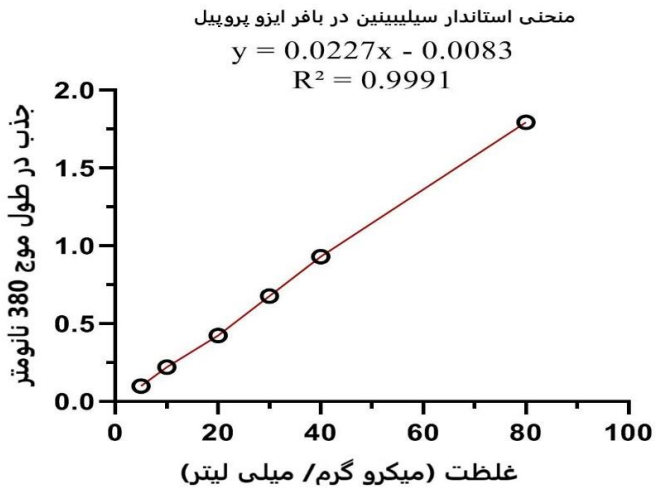
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

یک معادله درجه یک بوده و رابطه خطی میان جذب و غلظت را تأیید می‌کند.

نمودار استاندارد سیلی‌بینین در بافر ایزوپروپیل نیز خطی راست با معادله درجه یک Y=0.0227X-0.0083 و ضریب تعیین ۰/۹۹۹۱ است (نمودار ۳).



نمودار ۲. نمودار کالیبراسیون سیلی‌بینین در بافر PBS.



نمودار ۳. نمودار کایبراسیون سیلی‌بینین در بافر ایزوپروپیل.

بررسی درصد بارگذاری سیلی‌بینین درون نانو سامانه لیپوزومی

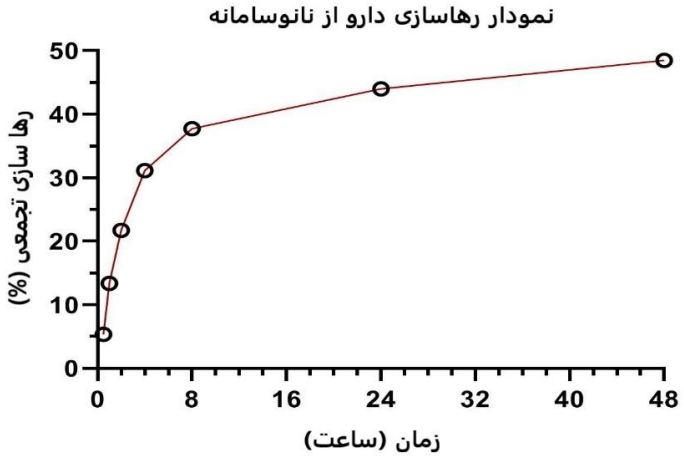
در این مرحله به‌منظور اندازه‌گیری میزان سیلی‌بینین لود شده از معادله خط حاصل از نمودار کالیبراسیون در حلال ایزوپروپانول، استفاده گردید و با جای‌گذاری داده‌ها در معادله ، میزان لود ۲,۱۴ ± ۶۴% اندازه‌گیری شد.

آنالیز کیفی و کمی الگوی رهایش

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

با استفاده از نمودار استاندارد سیلی‌بینین در PBS (نمودار ۴)، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسم گردید. بررسی الگوی رهایش نشان می‌دهد که نانو سامانه‌های لیپوزومی حاوی سیلی‌بینین دارای روند رهایشی آهسته (آهسته رهش) و پیوسته‌ایی هستند. هم‌چنین رهایش شدید سیلی-بینین در۱۰ ساعت اولیه است که با توجه‌به شیب غلظت ایجاد شده میان کیسه دیالیز و بافر PBS اطراف آن، امری طبیعی به‌نظر می‌رسد. سپس روند رهایش با یک شیب کمابیش ملایم و ثابت ادامه می‌یابد و در زمان ۴۸ ساعت میزان رهایش به بیش‌ترین مقدار خود می‌رسد و از این زمان به بعد با یک شیب آهسته روند آزادسازی روبه‌رو هستیم. همان‌گونه که از نمودار استنباط می‌گردد حداکثر میزان رهایش بعد از ۴۸ ساعت برابر با ۵۸/۴۲٪ است.



نمودار ۴. نمودار رهایش سیلی‌بین در بافر PBS در واحد زمان بر حسب ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد.

اندازه و بار سطحی (پتانسیل زتا) نانو سامانه‌های لیپوزومی

بررسی‌های DLS نشان می‌دهد که اندازه نانولیپوزوم‌های حاوی سیلی‌بینین ۱۱۳/۲ نانومتر است (شکل ۱) که تأیید کننده انداز مناسب نانو حامل‌ها است (زیر ۱۵۰ نانومتر). هم‌چنین میزان شارژ سطحی نانولیپوزوم‌های حاوی دارو معادل ۱,۶۳ mv ± ۲۲- است که نشان می‌دهد نانو سامانه حاصله، از نوع آنیونی است (شکل ۲).

مورفولوژی نانوذرات لیپوزومی حاوی سیلی‌بین

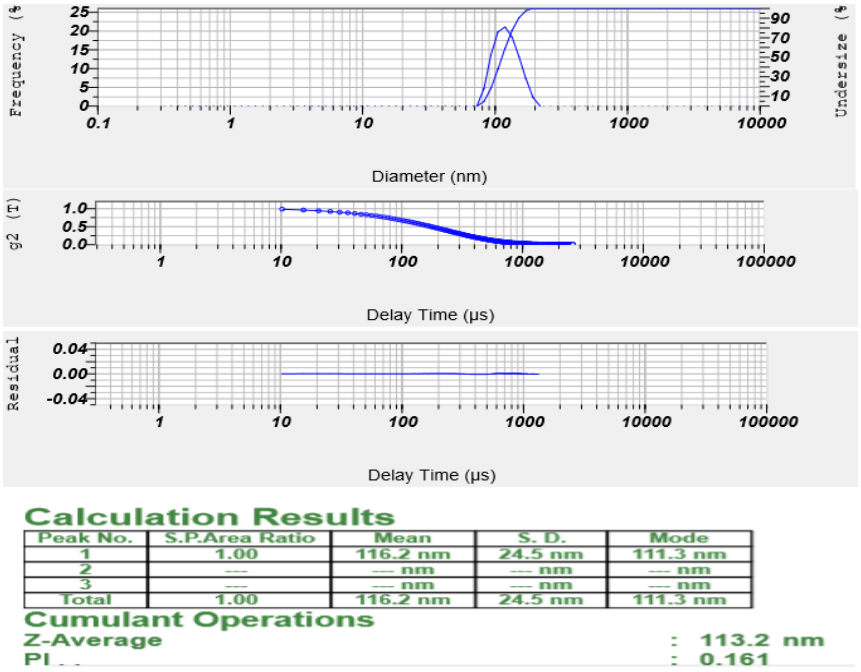
با توجه‌به تصاویر حاصل از عکس‌برداری از نانو حامل لیپیدی به‌وسیله میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) (شکل ۳)، مشاهده می‌شود که نانو حامل ساختار کروی خود را حفظ نموده است و نانو حامل‌های سنتز شده هیچ‌گونه تجمعی که سبب از دست رفتن پایداری و رفتار نامطلوب نانو حامل شود، از خود نشان نداده است.

بررسی نانوحامل‌های لیپوزومی حامل سیلی‌بینین و فاقد سیلی‌بینین

نتایج حاصل از سمیت نانولیپوزوم بدون دارو (بلانک لیپوزوم) و مقایسه آن نسبت به کنترل نشان می‌دهد که نانولیپوزوم بدون دارو، روی سلول‌های BT-474 سمیت نداشته و تأثیر جانبی روی سلول‌های بدن ایجاد نمی‌کند. نتایج تست MTT بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون رده سلولی BT-474 با غلظت‌های مختلف و فرم لیپوزومی سیلی‌بینین نشان می‌دهد که اثر سیلی‌بینین آزاد و سیلی‌بینین نانولیپوزومه در زمان ۴۸ ساعت به‌ترتیب از غلظت ۲۵ و ۱۲/۵میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیش‌تر از آن در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار شد ($P < ۰/۰۰۰۱$). این یافته‌ها نشان می‌دهد سیلی‌بینین آزاد در زمان ۴۸ ساعت با دوز بیش‌تر باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌گردد. درحالی‌که فرم نانولیپوزومه سیلی‌بینین با دوز کم‌تر می‌تواند (با غلظت

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

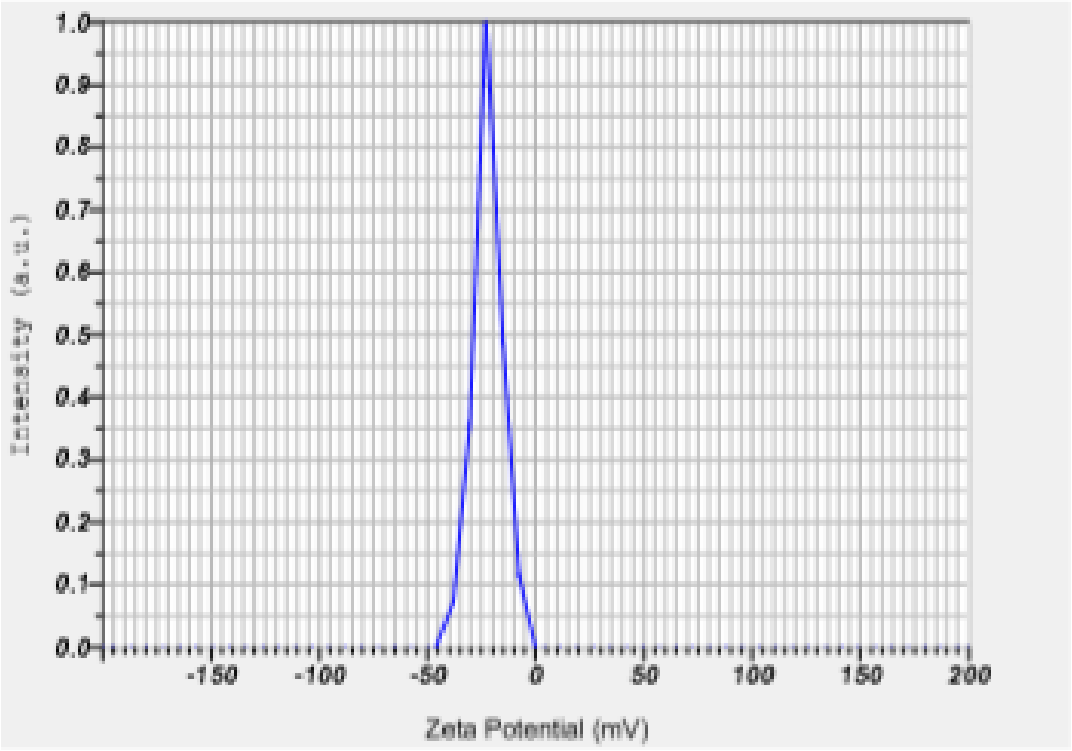
µg/mL ۱۲/۵) در سلول‌های سرطانی نسبت‌به کنترل، سمیت بیش‌تر ایجاد و در نتیجه سبب مهار رشد سلول شود. یافته‌ها نشان می‌دهد که در تمام غلظت‌های مختلف سیلی-بینین میزان مرگ ومیر سلول‌های سرطانی تیمارشده با سیلی‌بینین نانولیپوزومه، به‌میزان قابل توجهی نسبت‌به زمانی که از سیلی‌بینین آزاد استفاده می‌شود، افزایش داشت (P-value < ۰/۰۰۰۱). هم‌چنین میزان IC50 سیلی‌بینین آزاد ۵/۸ ± ۲۲۰/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و سیلی‌بینین نانولیپوزومه ۱/۲ ± ۳۸/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر در اثر بر روی سلول‌های سرطان پستان BT-474 است (جدول ۲، شکل ۶) که نشان می‌دهد سیلی‌بینین در فرم نانولیپوزومه با غلظت و میزان دوز داروی کم‌تر، سمیت بالاتری را در سلول‌های سرطانی نسبت‌به فرم آزاد ایجاد می‌کند و می‌توان نتیجه گرفت که سیلی‌بینین آزاد نیاز به ۵/۷ برابر غلظت بیش‌تری از دارو نسبت‌به سیلی‌بینین لیپوزومه دارد تا به مقدار IC50 سیلی‌بینین کپسوله شده دست‌یابد.



شکل ۱. اندازه نانو سامانه حاوی سیلی‌بین بر حسب نانومتر.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]



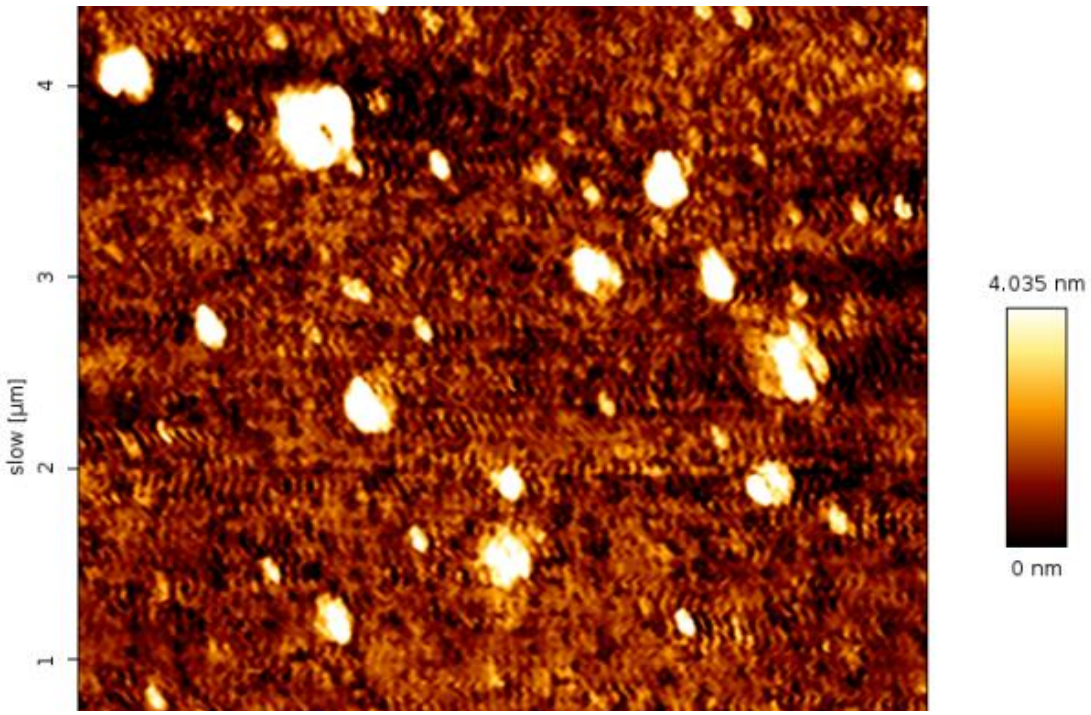
Calculation Results

Peak No.	Zeta Potential	Electrophoretic Mobility
1	-22.0 mV	-0.000171 cm2/Vs
2	--- mV	--- cm2/Vs
3	--- mV	--- cm2/Vs

Zeta Potential (Mean) : -22.0 mV

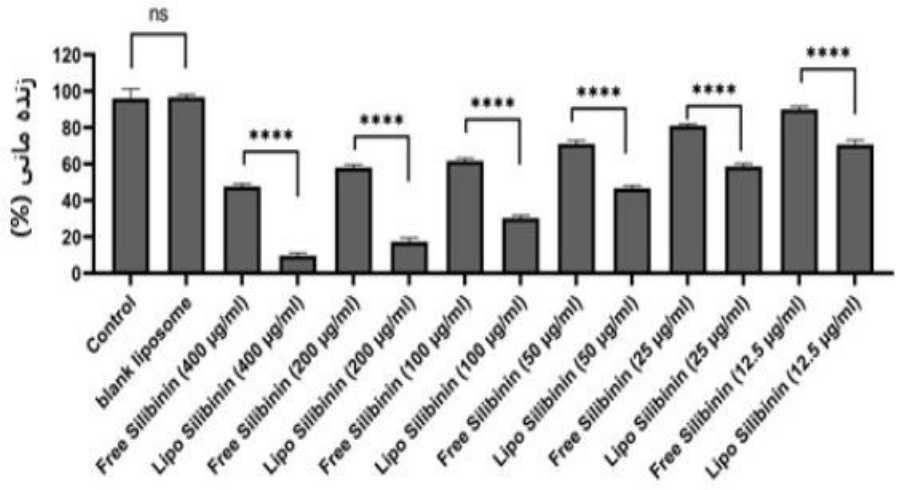
Electrophoretic Mobility Mean : -0.000171 cm²/Vs

شکل ۲. پتانسیل زتای نانو سامانه حاوی سیلی‌بین بر حسب میلی‌ولت.

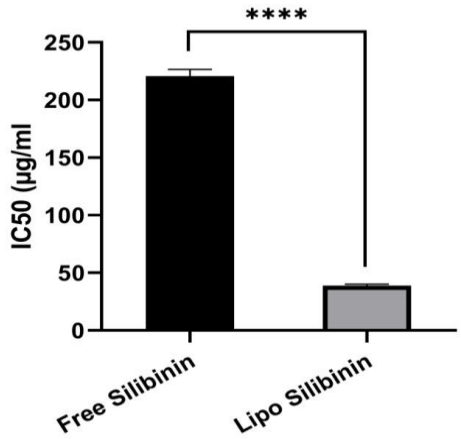


[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]



نمودار ۱. نتایج حاصل از تست MTT بر روی رده سلولی BT-474 سرطان پستان بعد از ۴۸ ساعت تیمار آن‌ها با فرم آزاد داروی سیلی‌بینین و فرم لیپو شده آن در غلظت‌های مختلف. با افزایش غلظت دارو میزان سمیت آن افزایش یافته هم‌چنین با لیپوزومه کردن آن نیز میزان اثر بخشی آن نسبت‌به فرم در غلظت‌های یکسان افزایش می‌یابد. ns: نشان دهنده عدم معناداری داده‌ها از نظر آماری است. ****: P-value < ۰/۰۵



شکل ۴. مقایسه IC50 داروی سیلی‌بین آزاد و انکپسوله شده بر روی سلول‌های رده BT-474 سرطان پستان. انکپسوله کردن دارو سبب بهبود عملکرد می‌شود. ****: P-value < ۰/۰۵

جدول ۲. مقایسه و بررسی میزان IC50 سیلی‌بینین آزاد با فرم نانولیپوزومه

IC50 values (µg.ml^{-1})	
TREATMENT	ON CELLS
FREE SILIBININ	۲۲۰/۶ ± ۵/۸
LIPO SILIBININ	۳۸/۷ ± ۱/۲

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که نانوذره لیپیدی - سیلیبینین با اندازه ۱۱۳/۲ NM و با پتانسیل زتای ۱۷

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

۲۲±۱/۶۳- با میزان لود ۲/۱۴ ± ۶۴٪ و آهسته رهش با حداکثر میزان رهایش ۵۸/۴۲٪ در ۴۸ ساعت، باعث افزایش مرگ سلولی در سرطان پستان می‌شود.

داده‌های حاصل از بررسی اثر سیلی‌بینین و نانوذره لیپوزومی حامل سیلی‌بینین بر روی لاین سلولی BT-474 سرطان پستان با روش MTT، علاوه‌بر تأیید خاصیت ضدسرطانی سیلی‌بین نشان داد خاصیت ضدسرطانی سیلی‌بینین در حالت بارگذاری شده در نانو سامانه لیپیدی نسبت‌به حالت آزاد آن بیش‌تر است که این موضوع را می‌توان با خاصیت رها سازی آهسته دارو و پایدار بودن نانو سامانه لیپوزومی حامل سیلی‌بینین مرتبط دانست.

سرطان دومین عامل مرگ‌ومیر بعد از بیماری‌های قلبی عروقی در بسیاری از جوامع ازجمله ایران است (۸). به‌دلیل عوارض جانبی بالای داروهای شیمی درمانی تلاش برای یافتن یک ترکیب جدید با منشأ کامل گیاهی و کم خطر، بسیار نیاز است (۹).

سیلی‌بینین، اثرهای مهاری در برابر تومور ایجاد و در نتیجه توقف چرخه سلولی در سلول‌های سرطانی اعمال می‌کند. این دارو می‌تواند از شروع و پیشرفت سرطان روده جلوگیری کند. سیلی‌بینین می‌تواند سبب مهار آنژیوژنز نیز شود، این ترکیب از هیپوکسی و تشکیل لوله‌های اندوتلیال و پیشرفت و تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند (۱۰).

در سال ۲۰۰۱، Lee و همکاران، سیلی‌بینین را بر روی سلول‌های MCF-7 سرطان پستان اثر داده‌اند و کاهش درصد بقا و افزایش میزان آپوپتوز در این سلول‌ها گزارش کرده‌اند (۱۱).

مطالعه‌ای، Mahmoodi و همکاران در سال ۲۰۱۴ نیز، اثر سیلیبینین را در مهار رشد و افزایش مرگ سلولی در رده سلولی T47D سرطان پستان نشان داد (۱۲). همسو با مطالعه‌های فوق، مطالعه ما نیز تأثیر سیلی‌بینین بر سلول‌های BT-474 سرطان پستان و خاصیت ضدسرطانی آن‌را تأیید کرد.

استفاده از حامل‌های دارویی نظیر لیپوزوم و نیوزوم سبب بهبود عملکرد دارو در درمان سرطان می‌شود (۱۳). مطالعه‌

اهمیت آن‌ها را در رسانش دارو، کاهش غلظت مصرفی دارو و بهبود عملکرد آن مشخص می‌کند.

Malekpour و همکارنش در سال ۲۰۱۰، ثابت کردند که سمیت لیپوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین نسبت‌به فرم آزاد دارو بر روی سلول‌های سرطان پستان (MDA-MB-231) بیش‌تر است و فرم لیپوزومه عملکرد بهتری بر روی این سلول‌ها دارند (۱۴).

Naderinezhad و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷، سمیت کورکومین آزاد و لیپوزوم‌های حاوی کورکومین را بر روی سلول‌های سرطان استخوان بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که کورکومین لیپوزومه در مقایسه با فرم آزاد آن سمیت بیش‌تری بر روی سلول‌های سرطان استخوان دارند (۱۵).

Alavi و همکاران هم‌چنین در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که لیپوزوم‌های حاوی داروی ضدسرطان هیدروکسی اوره دارای اثر سمیت بیش‌تری نسبت‌به فرم آزاد دارو بر روی سلول‌های سرطان پستان هستند (۱۶).

Sajjadiyan و همکاران نیز در سال ۲۰۱۶، سیلی‌بینین به‌صورت فرم نیوزومه را بر روی سلول‌های پستان سرطانی انسان (MCF-10) اثر دادند و مشخص کردند که سیلی‌بین‌های انکپسوله دارای سمیت بیش‌تری نسبت‌به فرم آزاد دارو بر روی سلول‌های سرطانی است (۱۷). هم‌سو با مطالعه‌های فوق مطالعه ما نیز ثابت کرد که اثر سمیت لیپوزوم‌های حاوی سیلی‌بینین نسبت‌به فرم آزاد سیلی‌بینین بر روی سلول‌های BT-474 سرطان پستان بیش‌تر است.

در سال ۲۰۱۳ Celia و همکارانش، نانولیپوزوم های حاوی عصاره ترنج با اندازه ۱۸۶ nm و پتانسیل زتای ۶- سنتز کردند و نشان دادند که نانولیپوزوم‌ها علاوه‌بر افزایش حلالیت عصاره می‌توانند سبب بهبود شاخص‌های ضدسرطانی آن گردند (۱۸). کاهش سایز ذرات از جمله مزیت‌های مطالعه ما نسبت‌به مطالعه فوق بود.

Ochi Ardebili و همکارانش در سال ۲۰۱۵، سامانه‌های لیپیدی حاوی سیلی‌بینین با بارگذاری ۲۴٪ دارو در سامانه تهیه کردند و ضمن تأیید آهسته رهش بودن سامانه نشان

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

به ۲۵٪ است (۱۹). از جمله برتری‌های این مطالعه نسبت‌به پژوهش Ochi Ardebili درصد لود بالاتر دارو است.

Haghjoo و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۵ نانو سامانه‌های لیپیدی حاوی بتاکارتن با اندازه بین ۸۰ تا ۹۰ نانومتر و میزان بارگذاری ۶۸/۸۳ درصد و شاخص پراکندگی ۰/۳ درصد سنتز کردند (۲۰). نتایج مطالعه آن‌ها از نظر میزان بارگذاری دارو بسیار شبیه نتایج پژوهش ما بود.

Haghiralsadat و همکاران نیز در سال ۲۰۱۶، لیپوزوم‌های حاوی اسانس زنیان با ۱۸۶ نانومتر، بار الکتریکی ۱- تا ۶/۷- میلی‌ولت و هم‌پوشانی ۳۶ درصدی با دارو سنتز کردند که نشان داد سامانه لیپوزومی سبب بهبود عملکرد دارو گردید (۱۳). بهبود عملکرد دارو و کاهش میزان داروی مصرفی نسبت‌به فرم آزاد وجه مشترک کار ما با پژوهش Haghiralsadat بود.

هم‌چنین Haiying Cue و همکاران نیز در مطالعه شبیه‌به مطالعه حاضر نانولیپوزوم‌هایی با اندازه بین ۷۸/۳ تا ۱۵۶/۱ نانومتر و پتانسیل زتای ۲۴/۵- حاوی عصاره میخک با رهایش آهسته عصاره سنتز کردند (۲۱). مورفولوژی نانوذرات و میزان بار سطحی آن‌ها از جمله فواید ذکر شده در این مطالعه بود که با مطالعه ما هم‌خوانی داشت.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه موفق به بارگذاری داروی سلی‌بینین در سامانه نانولیپوزومی و هم‌چنین مشخصه‌یابی آن گردیدیم و میزان تأثیر آن بر روی سلول‌های سرطان پستان رده BT-474 را نسبت‌به فرم آزاد دارو ارزیابی کردیم. در این مطالعه فرمولاسیونی از نانولیپوزوم‌های حاوی سیلی‌بین سنتز گردید که در آخر منجر به ساخت فرمولاسیون بهینه نانولیپوزوم‌های حاوی سیلی‌بینین با خواص فیزیکوشیمیایی مناسب، رهایش آهسته و با سمیت بیش‌تر و عملکرد بهتر نسبت‌به فرم آزاد سیلی‌بینین بر روی سلول‌های سرطانی گردید. نتایج مطالعه‌های ما نشان داد به‌احتمال می‌شود از نانو لیپیوزوم‌های بهینه سنتز شده به‌عنوان حاملی جهت رسانش سیلی‌بینین به‌عنوان داروی ضدسرطان به سلول‌های سرطانی از جمله سرطان پستان به‌منظور مقابله با این نوع سرطان استفاده کرد. به‌منظور این مهم انجام یکسری از تحقیقات تکمیلی مثل بررسی سیر بالینی نانولیپوزوم‌های حاوی سیلی‌بینین با هدف درمان و یا پیشرفت درمان در مدل‌های حیوانی و هم‌چنین بررسی اثر هم‌زمان سیلی‌بینین‌های انکپسوله شده بر روی سرطان پستان و تخمدان پیشنهاد می‌گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

منابع

1. Maman S, Witz IP. A history of exploring cancer in context. Nature Reviews Cancer. 2018;18(6):359-76.

2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA: a cancer journal for clinicians. 2019;69(1):7-34.

3. DeSantis CE, Ma J, Gaudet MM, Newman LA, Miller KD, Goding Sauer A, et al. Breast cancer statistics, 2019. CA: a cancer journal for clinicians. 2019;69(6):438-51.

4. Waks AG, Winer EP. Breast cancer treatment: a review. Jama. 2019;321(3):288-300.

5. Li Z, Tan S, Li S, Shen Q, Wang K. Cancer drug delivery in the nano era: An overview and perspectives. Oncology reports. 2017;38(2):611-24.

6. Elyasi S. Silybum marianum, antioxidant activity, and cancer patients. Cancer: Elsevier; 2021. p. 483-93.

7. Vahed SZ, Salehi R, Davaran S, Sharifi S. Liposome-based drug co-delivery systems in cancer cells. Materials Science and Engineering: C. 2017;71:1327-41.

8. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2018;68(6):394-424.

9. Boojar MMA, Boojar MMA, Golmohammad S. Overview of Silibinin anti-tumor effects. Journal of Herbal Medicine. 2020:100375.

10. Amirsaadat S, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Zarghami F, Alipour S, Ebrahimnezhad Z, Zarghami N. Silibinin-loaded magnetic nanoparticles inhibit hTERT gene expression and proliferation of lung cancer cells. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. 2017;45(8):1649-56.

11. Lee C-K, Choi J-S. Effects of silibinin, inhibitor of CYP3A4 and P-glycoprotein in vitro, on the pharmacokinetics of paclitaxel after oral and intravenous administration in rats. Pharmacology. 2010;85(6):350-6.

12. Mahmoodi N, Motamed N, Paylakhi SH. The comparison of the effects of silybin and silybin-phosphatidylcholine on viability and ESR expression in human breast cancer T47D cell line. Cell Journal (Yakhteh). 2014;16(3):299.

13. Haghiralsadat F, Azhdari M, Kalantar SM, Naderinezhad S, Teymourizadeh K, Yazdani M, et al. Strategy of Improvements in the rapeutic index of medicinal herbs of Iranianin digenous: Synthesis and characterization of phospholipid lipid-based vesicles in corporated Trachyspermum copticum. SSU_Journals. 2016;24(6):468-78.

14.Malekpour B. Jalalinadoushan mohammad reza, Mansoori S, Hajihoseini R, Mirzaei M, Jamali D. Comparison of the Killing Effect of Free, Negative and Neutral Charged Liposomal Doxorubicin on Breast Cancer Cell Line Daneshvar Medicine. 2010;17(85):63-70.

15. Naderinezhad S, Haghirosadat F, Amoabediny G, Naderinezhad A, Esmaili Z, Akbarzade A. Synthesis of biodegradable and self-assembled anionic nano–carrier: Novel approach for improvement of Curcumin-delivery to bone tumors cells & Mathematical modeling of drug-release kinetic. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2017;7(27):77-84.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]

16. Alavi SE, KoohiMoftakhariEsfahani M, Chiani M, Heidarinasab A. Evaluating the effect of nanoliposomal hydroxyurea urea on the breast cancer cell line. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2013;3(11):63-7.

17. Sajjadiyan SZ, Ghadernejad H, Milani AT, Mohammadian M, Abdolahpour S, Taslimi S, et al. Preparation of silibinin loaded pegylatedniosomal nanoparticles and investigation of its effect on MCF-10A human breast cancer cell line. Der Pharmacia Lettre. 2016;8(16):70-5.

18. Celia C, Trapasso E, Locatelli M, Navarra M, Ventura CA, Wolfram J, et al. Anticancer activity of liposomal bergamot essential oil (BEO) on human neuroblastoma cells. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2013;112:548-53.

19. Ochi Ardebili M, Amoabediny G, Rezayat S, Akbarzadeh A, Ebrahimi B. Design and preparation of encapsulated nano-liposome controlled release including silibinin anti-cancer herbal drug (nano phytosome). SSU_Journals. 2015;23(3):2000-12.

20. Haghjoo S, Ghanbarzadeh B, Hamishekar H, Asni Ashari S, Dehghannia J. Evaluation of Colloidal and Antioxidant Properties of Nanoliposome Loaded with Urtica dioica L. Extract. Innovative Food Technologies. 2015;2(3):11-23.

21. Cui H, Zhao C, Lin L. The specific antibacterial activity of liposome-encapsulated Clove oil and its application in tofu. Food Control. 2015;56:128-34.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-10-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.4.8]