مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره پنجم، شماره نوزدهم - تابستان ۱۳۹۴

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی کارائی سیس پلاتین نانوآرکئوزومه پگیله بر روی سرطان سینه در محیط برون تنی

معصومه کثیری[۱]، علی وزیری[۲]، مهدی ارجمند[۳]، حسن ابراهیمی شاهم آبادی[۴]، عظیم اکبرزاده خیاوی[۵]*

[۱] کارشناس ارشد، گروه مهندسی شیمی- بیوتکنولوژی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
[۲] استادیار، گروه مهندسی شیمی- بیوتکنولوژی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
[۳] دانشیار، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران جنوب، تهران، ایران
[۴] کارشناس ارشد، بخش پایلوت بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
[۵] استاد، بخش پایلوت بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: از نانوذرات آرکئوزومی در دارورسانی، به منظور افزایش اثربخشی دارو و کاهش عوارض جانبی استفاده می شود. در همین راستا در این مطالعه از این نانوذره به عنوان حامل سیس پلاتین استفاده شد.

مواد و روش ها: پس از کشت آرکی باکترهای متانوژن در محیط کشت مایع روتین و رشد آن، از سانتریفیوژ برای جداسازی آرکئوزوم از غشاء آرکی باکتر استفاده گردید. سپس با استفاده از بافر فسفات حاوی پلی اتیلن گلیکول و سیس پلاتین و هم زن مغناطیسی، امولسیونی هموژن از آرکئوزوم ها به دست آمد. هم چنین از سونیکاسیون جهت تهیه ابعاد نانو از آرکئوزوم ها و بارگذاری دارو بر روی این نانوذرات استفاده گردید. میزان کپسولاسیون سیس پلاتین در نانوذرات آرکئوزوم با استفاده از اولتراسانتریفیوژ و جداسازی سوپرناتانت، تعیین شد. از تست MTT و رده سلولی MCF-۷ جهت تعیین سمیت سلولی سیس پلاتین نانوآرکئوزومه پگیله، غیر پگیله و استاندارد استفاده شد.

یافته ها: نانوذرات حاوی دارو با موفقیت ساخته شدند. میزان سیس پلاتین بارگذاری شده بر نانوآرکئوزوم غیرپگیله و پگیله بترتیب ۵۴/۵۲ و ۷۰/۱۶ تخمین زده شد. هم چنین اندازه این ذرات بترتیب ۱۳۲/۸۴ و ۳۸۸/۳۱ نانومتر محاسبه گردید. میزان سایتوتوکسیسیتی دارو در حالت آرکئوزومه پگیله بیشتر از غیرپگیله تخمین زده شد. اما به هرحال، این مقادیر نسبت به شکل استاندارد دارو به میزان قابل ملاحظه ای، بیشتر برآورد گردید.

نتیجه گیری: از نانوحامل های آرکئوزوم می توان به عنوان حامل مناسب سیس پلاتین استفاده کرد، که در این بین پگیلاسیون نانودارو باعث افزایش کارایی آن نسبت به شکل غیرپگیله می شود.

کلمات کلیدی: دارورسانی، آرکئوزوم، سیس پلاتین، سرطان سینه

مقدمه:

امروزه در حیطه پزشکی و مخصوصاً دارورسانی، حجم زیادی از تحقیقات معطوف به استفاده از نانوفناوری برای افزایش کارایی عوامل شیمی درمانی و کاهش عوارض جانبی آنها است. از نانوحامل های مختلفی برای دارورسانی استفاده می شود که مهم ترین آنها شامل نانوذرات با اساس لیپیدی، پلیمری و فلزی می باشد. از نانوذرات لیپیدی می توان به نیوزوم ها، لیپوزوم ها و آرکئوزوم ها اشاره نمود. در دهه گذشته بطور گسترده از آرکئوزوم ها، به دلیل طبیعی و غیر سمی بودن، قابلیت تجزیه پذیری توسط بدن، تحویل تدریجی دارو و هدفگیری دارو به بافت خاص جهت دارورسانی و تحویل واکسن استفاده شده است. آرکئوزوم ها، از مزایای قابل توجهی نسبت به لیپوزوم های رایج که از لیپیدهای استری موجود در یوکاریوت ها و باکتری ها تهیه می شوند، برخوردار هستند. زیرا آنها دارای لیپیدهای دو قطبی هستند که در سرتاسر غشاء باکتری گونه آرکیال وجود دارد و این درحالی است که بطور عادی در لیپیدهای قطبی سایر باکتری ها و یوکاریوت ها، لیپیدهای تک قطبی

نویسنده مسئول: بخش پایلوت بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران.
پست الکترونیکی: azimakbarzadeh1326@gmail.com
تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۱۰/۲۳
تاریخ پذیرش : ۱۳۹۳/۰۴/۱۷

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.13.5]

یافت می شود. این ویژگی متمایز لیپیدهای آرکیال، خواص پایداری فیزیکی و شیمیایی بیشتری از قبیل پایداری حرارتی، پایداری در سرم، پایداری در pH های خیلی بالا و خیلی پائین، مقاومت به استرس های اکسیداتیو و مقاومت در مقابل عمل فسفولیپازها و نمک های صفراوی، اثرات درمانی و پیشگیری در مقابل پیشرفت سرطان را به آرکئوزوم ها می دهد (۱۱).

سرطان که با رشد و تکثیر خارج از کنترل سلول های بخشی از بدن بوجود می آید (۴) نتیجه عوامل محیطی و اختلالات ژنتیکی است؛ بطوریکه امروزه اصلی ترین عامل مرگ و میر در دنیا محسوب می شود و از این میان، سرطان سینه بالاترین میزان بروز را در زنان داراست (۱۳,۱۰). و از مهم ترین معضلات سلامتی زنان می باشد. عوامل ژنتیکی و محیطی متعددی از قبیل: سن، جنس، نژاد، عوامل خطر ژنتیکی، سابقه خانوادگی، دوره های 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 روش های مختلف از جمله: جراحی، رادیوتراپی، هورمون درمانی و شیمی درمانی جهت مبارزه با سرطان سینه مورد استفاده قرار می گیرد (۲۱,۱۵).

سیس پلاتین یکی از پرمصرف ترین داروها در شیمی درمانی سرطان از جمله سرطان سینه می باشد. عمده ترین عوارض جانبی سیس پلاتین شامل آسیب کلیه ها، آسیب سیستم عصبی، آسیب سیستم شنوایی، ریزش مو می باشد، به طوری که این اثرات مصرف دارو را برای بیماران محدود می کند (۱۷ ,۶). یکی از راه های کاهش این عوارض جانبی و هم چنین افزایش کارایی آن، کپسوله کردن دارو در حامل های نانو است (۷). بدین منظور تا به امروز از حامل های مختلفی استفاده شده است (۲۶,۲۳-۱۲,۲۷). در این پژوهش، آرکئوزوم پگیله و غیرپگیله به عنوان سیستم انتقال داروی سیس پلاتین در سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

آرکی باکتریهای متانوژن[۱] از پایلوت بیوتکنولوژی پژوهشگاه صنعت نفت تهیه شد. پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ دالتون از شرکت کیمیاگران امروز (ایران) تهیه شد. داروی سیس پلاتین بصورت ویال های تزریقی با غلظت ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر ساخت شرکت میلان (MYLAN) می باشد. MTT[۲] از شرکت سیگما، و ایزوپروپانول از شرکت مرک و محیط کشت RPMI ۱٦٤۰، سرم FBS[۳] و محلول تریپسین از شرکت Invitrogen خریداری گردید. سلول MCF-۷[٤] از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید.

تهیه آرکئوزوم: در این تحقیق به منظور تولید آرکئوزوم از آرکی باکترهای متانوژن، محیط کشت مناسبی برای رشد و تکثیر آرکی باکترها مورد نیاز بود. محیط حاصل براساس مطالعات قبلی (۸ ,۲۰-۱۸) و متشکل از pepton (۲/۵ گرم بر لیتر)، KCl (۱/۵ گرم بر لیتر)، $MgSo_4,۷H_2o$ (۵/۵ گرم بر لیتر)، $MgCl_2,٦H_2o$ (۱۰ گرم بر لیتر)، NaCl (۸۰ گرم بر لیتر)، yeast (۰/۵ گرم بر لیتر) و $CaCl_2,۲H_2o$ (۰/۵ گرم بر لیتر) تهیه شد. که در pH=۷ تهیه و برای تنظیم آن از Tris.Hcl و Tris. Base استفاده گردید و سپس تحت شرایط دمایی ۱۲۱ °C و به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. برای کشت آرکی باکترها در محیط کشت تهیه شده زیر هود شیمیایی و در کنار شعله تحت شرایط کاملا استریل ۴ میکرولیتر از آرکی باکتر را به ارلن حاوی ml ۵۰ از محیط کشت اضافه کرده و سپس به منظور فراهم نمودن شرایط مناسب برای رشد آرکی باکتر، داخل شیکرانکوباتور با دور ۹۰rpm و دمای ۳۷ °C قرار داده شد. برای دستیابی به میزان موردنظر از آرکی باکترها، فرآیند پاساژ به تعداد ۵ ارلن انجام شد. سپس برای استخراج آرکئوزوم ها، محتویات ۵ ارلن به فالکون های اتوکلاو شده انتقال داده شده و با دورهای ۳۰۰۰ تا۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۲ تا ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در نتیجه فرآیند جداسازی با استفاده از سانتریفیوژ، محلول داخل فالکون ها دو فازی شده که بعد از خارج نمودن مایع رویی فالکون ها، وزن آرکئوزوم ها که بصورت نیمه جامد به کف و جداره فالکون چسبیده بودند، اندازه گیری گردید.

بارگذاری سیس پلاتین بر آرکئوزوم

جهت انحلال آرکئوزوم ها از محلول بافرفسفات[۵] استفاده گردید. بدین ترتیب که زیر هود شیمیایی به فالکون های حاوی آرکئوزومml ۱۰ بافرفسفات اضافه و بعد از انحلال آرکئوزوم ها محتویات فالکون ها را به ارلن حاوی بافرفسفات اضافه نموده دهانه ارلن را با دو لایه پارافیلم پوشانیده و روی دستگاه همزن قرار داده شد. سپس ۴۰ میلی لیتر از سیس پلاتین، بر حسب

۱ Methanosarcina Mazei, DSMZ No. 3213
Methanococcus jannaschii, DSMZ No. 2546
Methanobrevibacter smithii, ATCC No. 350611

۲ Dimethylthiazol Diphenyl Tetrazolium Bromide

۳ (Phosphate Buffered Saline (PBS

٤ Human breast adenocarcinoma cell line (NCBI C135)

۵ (Phosphate Buffered Saline (PBS

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.13.5]

وزن آرکئوزوم ها و با نسبت ۱ به ۱۰۰ سیس پلاتین به آرکئوزوم به ارلن اضافه شد. بعد از انحلال کامل، برای بارگذاری سیس پلاتین بر روی آرکئوزوم و تغییر اندازه آرکئوزوم حامل دارو به نانو، محلول یکنواخت داخل ارلن توسط دستگاه سونیکاتور حمام دار با توان ۶۰ وات و فرکانس ۳۰khz و مدت زمان ۱۵ دقیقه سونیکه شد. پس از فرآیند سونیکاسیون به محلول حاوی بافرفسفات، نانوآرکئوزوم حامل سیس پلاتین و سیس پلاتین بارگذاری نشده دست یافتیم.

بارگذاری سیس پلاتین بر آرکئوزوم پگیله

این مرحله نیز مشابه فرآیند بارگذاری دارو بر روی حامل آرکئوزوم بود. با این تفاوت که قبل از اضافه کردن دارو به محلول حاوی بافرفسفات و آرکئوزوم، ۱۰ گرم پلی اتیلن گلیکول به محلول اضافه و بعد از انحلال کامل PEG، دارو را اضافه کرده و در نهایت تحت شرایط ذکر شده محلول سونیکه گردید.

بعد از اتمام فرآیند سونیکاسیون، مقداری از محلول سونیکه شده با استفاده از دستگاه زتاسایزر جهت بررسی اندازه ذرات در ابعاد نانو مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل از دستگاه زتاسایزر نشان از اندازه قابل قبول آرکئوزوم و آرکئوزوم پگیله داشت که اندازه این ذرات به ترتیب ۱۳۲/۸۴ و ۳۸۸/۳۱ نانومتر محاسبه گردید.

بررسی میزان بارگذاری سیس پلاتین بر آرکئوزوم و آرکئوزوم پگیله

برای بررسی میزان بارگذاری سیس پلاتین بر روی نانوآرکئوزوم و نانوآرکئوزومه پگیله مقدار مشخصی از محلول های سونیکه شده فوق با دور ۵۰۰۰۰ و به مدت زمان ۴۰ دقیقه اولتراسانتریفیوژ گردید. که در نتیجه آن هر یک از دو نمونه محلول حاضر دو فازی شد. در هر یک از نمونه ها فاز جامد بترتیب شامل نانوآرکئوزوم حامل دارو و نانوآرکئوزوم پگیله حامل دارو است که به کف میکروتیوب ها چسبیده و فاز مایع یا همان سوپ رویی (سوپرناتانت)، محلول شفافی است که حاوی بافرفسفات و درصدی از دارو است که بر روی حامل های ذکر شده بارگذاری نشده اند. برای مشخص نمودن میزان داروی کپسوله نشده موجود در مایع سوپرناتانت تست جذب اتمی انجام شد. در نهایت با استفاده از وزن دو نمونه محلول، میزان اولیه دارو و میزان داروی موجود در سوپرناتانت (که از تست جذب اتمی بدست آمد) درصد بارگذاری سیس پلاتین بر روی نانوآرکئوزوم و نانوآرکئوزوم پگیله حاصل گردید.

بررسی برون تنی سمیت سلولی سیس پلاتین

برای بررسی سمیت سلولی بر روی رده سلولی MCF-۷ از تکنیک MTT استفاده گردید این سنجش که اساس آن بر پایه فعالیت آنزیم ردوکتاز میتوکندریایی در تبدیل محلول زردرنگ MTT به کریستال های نامحلول و بنفش فرمازان می باشد در دوره های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام پذیرفت. سلول ها در رقت ۱×۱۰^{۴} به ازاء هر چاهک پلیت ۹۶ خانه در محیط کشت RPMI۱۶۴۰ حاوی ۲ میلی مولار گلوتامین، ۲ گرم در لیتر بی کربنات سدیم، ۱۰۰ واحد در میلی لیتر پنی سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استرپتومایسین و در انکوباتور در دمای ۳۷ °C و ۵ دی اکسید کربن و ۹۵ بخارآب کشت داده شدند(۲۸). ۲۴ ساعت پس از کشت سلول ها و چسبیدن آنها، محیط رویی بیرون ریخته شد و سلول ها با فرمولاسیون های دارویی مختلف در غلظت های ۰/۲ تا ۱ $\frac{mgmg}{ml\ ml}$ تیمار شدند. ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون، محیط های حاوی فرمولاسیونهای دارویی برداشته و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT (۰/۵ میلی گرم MTT در ml ۱ بافر فسفات با pH برابر با ۷/۵) به هر چاهک اضافه شد و به مدت سه ساعت انکوباسیون صورت گرفت. سپس محلول MTT برداشته و جهت حل شدن کریستال های فورمازان تشکیل شده، ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول ۱۰۰ به هر چاهک اضافه و به هم زده شد. در محله بعد میزان جذب در ۵۷۰ نانومتر بوسیله دستگاه الایزاریدر (BioTek Instruments, VT, U.S.A) خوانده شد(۱۶). با بررسی خروجی دستگاه الایزاریدر به میزان اثر بخشی نانو آرکئوزوم پگیله حامل سیس پلاتین در مقایسه با نانوآرکئوزوم حامل سیس پلاتین، داروی سیس پلاتین به تنهایی و عدم استفاده دارو در سلول های شاهد دست یافتیم.

یافته ها

محاسبه درصد بارگذاری سیس پلاتین

پس از فرآیند اولتراسانتریفیوژ بر روی دو نمونه محلول نانوآرکئوزوم حامل دارو و نانوآرکئوزومه پگیله حامل دارو، برای تعیین میزان داروی بارگذاری شده با استفاده از تکنیک جذب اتمی از فاز سوپرناتانت استفاده گردید. و در نتیجه با توجه به میزان اولیه دارو، میزان داروی کپسوله نشده که از تست جذب اتمی بدست آمد و اعمال موزانه جرم درصد سیس پلاتین بارگذاری شده بر روی نانوآرکئوزوم و نانوآرکئوزوم پگیله به ترتیب زیر محاسبه شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.13.5]

الف) نمونه اول شامل محلول سیس پلاتین و نانو آرکئوزوم

$\rho_{cisplatin} = ۳,۷۳۸ \frac{gr}{cm^3} \frac{gr}{cm^3}$

$\rho_{PBS} = ۷,۶ \frac{gr}{cm^3} \frac{gr}{cm^3}$

$\rho_{solution} = \frac{40\ 40}{140140} * ۳,۷۳۸ + \frac{100100}{140140} * ۷,۶ = ۶,۴۹ \frac{gr}{cm^3}$

$\mu_{PBS} = ۳۰۰ \frac{gr}{cm^3} \frac{gr}{cm^3}$

$\mu_{PBS} = ۲۳۹,۳ \frac{gr}{mol} \frac{gr}{mol}$

$\mu_{solution} = \frac{40\ 40}{140140} * ۳۰۰ + \frac{140140}{40\ 40} * ۲۳۹,۳ = ۲۵۶,۶۴ \frac{gr}{mol} \frac{gr}{mol}$

بعد از فرآیند بارگذاری سیس پلاتین بر روی نانوحامل آرکئوزوم نسبت تعداد ذرات سیس پلاتین به تعداد ذرات محلول بصورت زیر محاسبه گردید.

$\frac{40\ ml\ cisplatin}{140\ ml\ solution} \frac{40\ ml\ cisplatin}{140\ ml\ solution} * \frac{6.49\ gr}{ml\ solution} \frac{6.49\ gr}{ml\ solution} *$

$* \frac{256.64\ gr}{6.02*10^{23}\ particle\ solution} \frac{256.64\ gr}{6.02*10^{23}\ particle\ solution} *$

$* \frac{mg\ cisplatin}{ml\ cisplatin} \frac{mg\ cisplatin}{ml\ cisplatin} * \frac{gr\ cisplatin}{10^3\ mg\ cisplatin} \frac{gr\ cisplatin}{10^3\ mg\ cisplatin} *$

$= \frac{6.02*10^{23}\ particle\ cisplatin}{300\ gr\ cisplatin} \frac{6.02*10^{23}\ particle\ cisplatin}{300\ gr\ cisplatin} * ۳,۷۶$

$\frac{particle\ cisplatin}{particle\ solution} \frac{particle\ cisplatin}{particle\ solution} 10^{-5} 10^{-5}$

سپس با استفاده از میزان پلاتین موجود در ترکیب سیس پلاتین و نتایج حاصل از دستگاه جذب اتمی محاسبات همان گونه که در ذیل آمده است انجام شد.

$cl_۲H_۶N_۲pt$ Cisplatin

$۲H_۲o + KH_۲po_۴ . Nacl + Kcl + Na_۲Hpo_۴$ PBS

Pt presence in cisplatin compound probability =

$= \frac{11}{11} * \frac{22}{22} * \frac{6\ 6}{1313} * \frac{22}{44} = ۰,۲۳$

$\frac{particle\ pt}{particle\ solution} ۷۴ = ۷۴ppm =$ AtomicAbsorption Result

$\frac{particle\ pt}{particle\ solution}$

Modified Atimic Absorption Result = ۷۴ ppm * ۰,۲۳ =

$\frac{particle\ pt}{particle\ solution} \frac{particle\ pt}{particle\ solution} 10^{-6} 10^{-6} * ۱۷,۰۲$

Cisplatin presence sediment phase = $10^{-5} 10^{-5} * ۳,۷۶$

$10^{6} 10^{6} * ۱۷,۰۲ - \frac{particle\ pt}{particle\ solution} \frac{particle\ pt}{particle\ solution}$

$10^{-5} 10^{-5} * ۲,۰۵ = \frac{particle\ pt}{particle\ solution} \frac{particle\ pt}{particle\ solution}$

$\frac{particle\ pt}{particle\ solution} \frac{particle\ pt}{particle\ solution}$

درصد سیس پلاتین بارگذاری شده بر روی نانوحامل آرکئوزوم برابر است با:

Loading percentage = ۵۴,۵۲

ب) نمونه دوم شامل محلول سیس پلاتین و نانوآرکئوزوم پگیله:

مطابق محاسبات فوق میزان داروی بارگذاری شده بر روی نانوآرکئوزوم پگیله بدست آمد.

$m_{PEG} = ۱۰ gr$

$\rho_{PEG} = ۱,۰۸ \frac{gr}{cm^3} \frac{gr}{cm^3}$

$M_{w\ PEG} = ۶۰۰۰ \frac{gr}{mol} \frac{gr}{mol}$

$V_{PEG} = \frac{10\ gr}{1.08\ \frac{gr}{cm^3}} \frac{10\ gr}{1.08\ \frac{gr}{cm^3}} = ۹,۲۵ cm^3 cm^3$

$V_{solution} = V_{PBS} + V_{cisplatin} + V_{PEG} = ۱۰۰ + ۴۰ + ۹,۲۵ = ۱۴۹,۲۵ ml$

$\rho_{solution} = \frac{40}{149.25} \frac{40}{149.25} * ۳,۷۳۸ + \frac{100}{149.25} \frac{100}{149.25} * ۷,۶ + \frac{9.25}{149.25}$

$\frac{gr}{cm^3} \frac{gr}{cm^3} ۶,۱۵۶ = ۱,۰۸ *$

$\mu_{solution} = \frac{40}{149.25} \frac{40}{149.25} * ۳۰۰ + \frac{100}{149.25} \frac{100}{149.25} * ۲۳۹,۳ + \frac{9.25}{149.25}$

$\frac{gr}{mol} \frac{gr}{mol} ۶۱۲,۵۸ = ۶۰۰۰ * \frac{9.25}{149.25}$

$\frac{40\ ml\ cisplatin}{149.25\ ml\ solution} \frac{40\ ml\ cisplatin}{149.25\ ml\ solution} * \frac{6.156\ gr}{612.58\ gr} \frac{6.156\ gr}{612.58\ gr} * \frac{ml\ solution}{6.156\ gr} \frac{ml\ solution}{6.156\ gr} *$

$* \frac{6.02*10^{23}\ particle\ solution}{gr\ cisplatin} \frac{6.02*10^{23}\ particle\ solution}{gr\ cisplatin} * \frac{mg\ cisplatin}{10^3\ mg\ cisplatin} \frac{mg\ cisplatin}{10^3\ mg\ cisplatin} * \frac{ml\ cisplatin}{mg\ cisplatin} \frac{ml\ cisplatin}{mg\ cisplatin}$

$= \frac{6.02*10^{23}\ particle\ cisplatin}{300\ gr\ cisplatin} \frac{6.02*10^{23}\ particle\ cisplatin}{300\ gr\ cisplatin} * ۸,۸۸$

$10^{-5} 10^{-5}$

Atomic Absorption Result = ۱۱۶ ppm

Modified Atomic Absorption Result = ۰,۲۳*۱۱۶ = ۲۶,۶۸ ppm

Cisplatin presence sediment phase = $10^{-5} * ۸,۸۸$

$\frac{particle\ cisplatin}{particle\ solution} \frac{particle\ cisplatin}{particle\ solution} 10^{-5} - 10^{-6} * ۲۶,۶۸$

$\frac{particle\ pt}{particle\ solution} \frac{particle\ pt}{particle\ solution} 10^{-6} = \frac{particle\ pt}{particle\ solution} \frac{particle\ pt}{particle\ solution} 10^{-5} 10^{-5} * ۶,۲۱$

بنابراین درصد بارگذاری سیس پلاتین روی نانوحامل آرکئوزوم پگیله عبارتست از:

Loading percentage = ۷۰,۱۶

نتایج حاصل از تست MTT بر رده سلولی MCF-۷ سرطان سینه

شدت نور جذب شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتری الایزاریدر که با تعداد سلول های زنده ارتباط مستقیم دارد در مرحله ای که ۱۰۰۰۰ سلول در چاهک های پلیت موجود بودند ۰/۹۶۸ گزارش شد. در نتیجه برای تخمین تعداد سلول های زنده در دیگر چاهک های پلیت، می توان با استفاده از این عدد (بعنوان یک عدد مبنا) و نیز شدت جذب خوانده شده در مراحل بعدی تست، تعداد سلول های زنده در هر چاهک پلیت را بدست آورد (۵). برای مثال چنانچه شدت جذب خوانده شده ۰/۸۸۱ باشد تعداد سلول های زنده برابر است با:

$X = ۰,۸۸۱ * \frac{10000}{0.968} \frac{10000}{0.968} = ۹۱۰۱$ cell

درواقع با یک تقریب مناسب می توان تعداد سلول های زنده

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.13.5]

در هر چاهک و نهایتا درصد کشندگی دارو را برآورد نمود. بر این اساس متوسط شدت نور جذب شده در یک ردیف پلیت که داروی سیس پلاتین به فرم آزاد بر روی سلول ها اثر داده شد برابر است با:

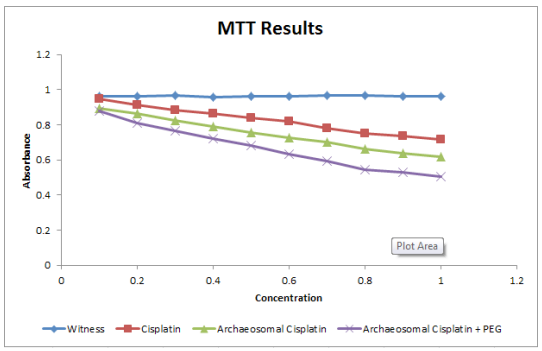
$$Absorbance_{average} = ۰/۸۲۴۸$$

در ادامه متوسط تعداد سلول های زنده در یک ردیف پلیت ۹۶ خانه و درصد کشندگی داروی سیس پلاتین با تقریب بسیار خوب بنحوی که در ذیل آمده است محاسبه گردید.

$$X = \frac{1000010000}{0/9680/968} * ۰/۸۲۴۸ = ۸۵۲۰ \text{ cell}$$

$$\text{درصد کشندگی دارو} = \frac{100 \quad 100}{1000010000} * ۱۴۸۰ = ۸/۱۴$$

با توجه به اینکه متوسط شدت نور جذب شده در ردیف هایی از پلیت که داروهای نانو سیس پلاتین نانوآرکئوزومه و نانوآرکئوزومه پگیله بر روی سلول ها اثر داده شدند بترتیب ۰/۷۴۶۹ و ۰/۶۶۵۸ بدست آمد، درصد کشندگی نیز بترتیب ۲۲/۸۵ و ۳۱/۲۲ حاصل شد. در نهایت می توان اثر بخشی داروهای سیس پلاتین تنها، سیس پلاتین نانوآرکئوزومه و نانوآرکئوزومه پگیله را در غالب نمودار زیر که برحسب غلظت داروهای مصرفی و شدت نور جذب شده (نتایج حاصل از دستگاه الایزاریدر) رسم شده است، مورد بررسی قرار داد. بدین ترتیب که در غلظت های مشخصی از دارو، داروی سیس پلاتین نانوآرکئوزومه پگیله کمترین میزان جذب و یا به عبارتی کمترین تعداد سلول های زنده را داشته و این نشان دهنده آنست که سیس پلاتین نانوآرکئوزومه پگیله بیشترین میزان اثربخشی و سمیت را بر روی سلول ها داشته است.



نمودار-۱: غلظت دارو بر حسب شدت نور جذب شده

بحث

تاکنون آزمایشات و تحقیقات مشابهی با هدف بارگذاری دارو بر روی نانوحامل های مختلفی صورت گرفته است که به نتایج ۴۵ ، ۱۸ و ۳۱ در میزان بارگذاری دارو دست یافته اند (۲,۱,۱۴). پلی اتیلن گلیکول یکی از موفق ترین پلیمرهای مورد استفاده در دارورسانی می باشد که بیشترین امکان کپسولاسیون، افزایش انحلال پذیری(۹) ارتقاء زیست دسترس پذیری و نیز عدم شناسایی و حذف توسط سامانه ایمنی بدن را فراهم کرده و داروهای با انحلال پذیری ضعیف و ناپایدار را از محیط بیولوژیکی محافظت می کند. و بر اساس تحقیقات صورت گرفته نشان داده شد که پلی اتیلن گلیکول باعث افزایش پایداری نانوذره (۲۴) و کاهش رهش دارو (۳) می گردد به همین منظور در این پژوهش برای افزایش بارگذاری دارو بر روی نانوحامل و هم چنین افزایش پایداری و رسانش موثرتر دارو سطح نانوحامل با پوشش پلیمری پلی اتیلن گلیکول پوشانده شد. نتایج حاصل از آزمایشات و محاسبه درصد بارگذاری دارو نشان می دهد که درصد بارگذاری داروی سیس پلاتین بر روی نانوحامل آرکئوزوم و نانوحامل آرکئوزومه پگیله بترتیب ۵۴/۵۲ و ۷۰/۱۶ است که با توجه به اندازه نانوذرات (نتایج حاصل از دستگاه زتاسایزر) و هم چنین اثر گذاری پلی اتیلن گلیکول در فرآیند بارگذاری چنین نتایجی قابل قبول خواهد بود. برای ارزیابی و مقایسه سمیت سلولی دارو، در فرمولاسیون ساده، پگیله و غیر پگیله از تکنیک MTT استفاده گردید و درصد کشندگی سیس پلاتین نانوآرکئوزومه، نانوآرکئوزومه پگیله و سیس پلاتین تنها بترتیب ۲۲/۸۵ ، ۳۱/۲۱ ، ۱۴/۸ حاصل شد. نتایج بدست آمده از آزمایشات انجام شده از این جهت قابل ملاحظه می باشد که علاوه بر افزایش میزان بارگذاری دارو بر نانوآرکئوزوم پگیله، افزایش توان کشندگی داروی سیس پلاتین نانوآرکئوزومه پگیله را مطرح می کند. که این نتایج در مقایسه با نتایج حاصل از فرایندهای کپسولاسیون با حامل های دیگر از جمله فسفاتیدیل اتانول آمین و لیپوزوم که افزایش ۱۹ و ۱۵ در عملکرد داروی سیس پلاتین به همراه داشتند (۲۵,۲۲) مطلوب و قابل قبول می باشد. هم چنین از مزیت های آرکئوزم ها که در این پژوهش بعنوان حامل دارو در نظر گرفته شد نسبت به سایر حاملین دارویی اینست که جداسازی و استخراج آرکئوزوم از غشا آرکی باکترهای رشد یافته توسط سانتریفیوژ و بدون استفاده از حلال های آلی صورت گرفته که در نتیجه آن نیز اثرات جانبی مخرب استفاده از حلال های آلی را نخواهد داشت. استفاده از محلول بافر فسفات در فرآیند بارگذاری دارو بر روی نانوحامل ها از دیگر مزیت های پژوهش حاضر می باشد که معایب استفاده از حلال های آلی از جمله استون را با توجه به اثرات جانبی و هزینه بالایی که دارند حذف کرده است. بنابراین به منظور دستیابی به تولید داروهایی با اثربخشی و پایداری بالا، عوارض جانبی کم و نیز طول عمر طولانی در بدن می بایست حامل هایی برای حمل و رساندن دارو طراحی شوند تا اهداف بالا را تأمین کنند. که نانوآرکئوزوم پگیله می تواند به عنوان یک حامل مناسب برای کاربردهای تجاری در نظر گرفته شود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.13.5]

نتیجه گیری

میزان سمیت و کشندگی دارو با استفاده از تکنیک سنجش MTT ارزیابی شد و در نهایت اثربخشی سیس پلاتین نانوآرکئوزومه پگیله در مقایسه با سیس پلاتین نانوآرکئوزومه، داروی سیس پلاتین به تنهایی و عدم استفاده از دارو در سلول های شاهد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سیس پلاتین نانوآرکئوزومه پگیله یک ترکیب ضدسرطانی موثر می باشد که اثرات سمیت آن بر روی رده سلولی MCF-۷ در مقایسه با سیس پلاتین نانوآرکئوزومه و داروی سیس پلاتین تنها بیشتر می باشد.

سپاسگزای

این مقاله به عنوان بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد در بخش پایلوت نانوبیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران انجام شد که بدین وسیله از تمامی همکاران تشکر می نمایم.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.13.5]

منابع

1. Abra Robert M ,Reis K. Hydrophobic Cis-Platinum Complexes Efficiently Incorporated into Liposomes, SP Inc. US5178876 US Patent, 1999.
2. Bhatia A, Pharma S. Advanced Research Centre, Vadodara, Gujrat, India, Rajiv Kumar, Om Prakash Katare, University Institute of Pharmaceutical Sciences, Panjab University, Chandigarh, India, Tamoxifen in topical liposomes: development, characterization and in-vitro evaluation. 2004;7(2):252-259.
3. Cho Y, Shi R, Borgens RB, Ivanisevic A. Functionalized mesoporous silica nanoparticle-based drug delivery system to rescue acrolein-mediated cell death. Nanomedicine (Lond). 2008 Aug;3(4):507-19.
4. Coleman WB, Tsongalis GJ. The Molecular Basis of Human Cancer. Human Press. Totowa, New Jersey (2002).
5. Doyle A, Griffiths J B, Cell Quantification, Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures in Biotechnology, First Edition,Toronto,Wiley.1998;53-64.
6. Giaccone G. Clinical perspectives on platinum resistance. Drugs. 2000;59 Suppl 4:9-17**.**
7. Hirai M, Minematsu H, Hiramatsu Y, Kitagawa H, Otani T, Iwashita S, Kudoh T, Chen L, Li Y, Okada M, Salomon DS, Igarashi K, Chikuma M, Seno M. Novel and simple loading procedure of cisplatin into liposomes and targeting tumor endothelial cells. Int J Pharm. 2010 May 31;391(1-2):274-83.
8. Li Z, Chen J, Wenqiang S, Yuhong X. Investigation of archaeosomes as carriers for oral delivery of peptides. Biochem Biophys Res Comm, 2010; 2 (394): 412-417.
9. Milla P, Dosio F, Cattel L. PEGylation of proteins and liposomes: a powerful and flexible strategy to improve the drug delivery. Curr Drug Metab. 2012 Jan;13(1):105-19.
10. Mousavi M, Davanlo M, Haj sadeghi N. State Registration of cancer cases reported in 1384, Ministry of Health, Medical Education, Center for Disease Management, Department of Cancer.1-56. [In Persian]
11. Mozafari MR, Khosravi-Darani K. Nanomaterials and nanosystems for biomedical applications. Springer 2006; 58-190
12. Nishiyama N, Kato Y, Sugiyama Y, Kataoka K. Cisplatin-loaded polymer-metal complex micelle with tim- modulated decaying property as a novel drug delivery system. Pharm Res. 2001 Jul;18(7):1035-41.
13. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005;55:74-108.
14. Patel SS, Patel MS, Salampure S, Vishwanath B Patel NM. Development and Evaluation of Liposomes for Topical Delivery of Tacrolimus (FK-506). J Sci Res, 2010; 2(3); 587- 597.
15. Platek ME. American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2007-2008. Atlanta: American Cancer Society 2008, Inc.
16.
17. Satyanarayanajois S, Optimization of the Tetrazolium Dye (MTT) Colorimetric Assay for Cellular Growth and Viability Drug Design and Discovery Methods and Protocols, First Edition, New York, Humana Press. 2011;157-168.
18. S. Dhar, N. Kolishetti, S.J. Lippard, and O.C. Farokhzad, Targeted delivery of a cisplatin prodrug for safer and more effective prostate cancer therapy in vivo, Proc Natl Acad Sci USA, 108 (2011), 1850-1855.
19. Sprott DG, Brisson JR, Chantal JD, Pelletier AK, Deschatelets LA, Krishnan L, Girishchandra BP. Chapter 2, A structural comparison of the total polar lipids from the human archaea Methanobrevibacter smithii and Methanosphaerastadtmanae and its relevance to the adjuvant activities of their liposomes. BBA , 1999;1440 (2-3): 275-288 .

.02 Sprott GD, Girishchandra BP, Krishnan L ,Archaeobacterial Ether Lipid Liposomes as Vaccine Adjuvants. Methods in Enzymol, 2003; 373:155-172.

.12 Sprott GD, Dicaire CJ, Gurnani K, Deschatelets LA, Krishnan L. Liposome adjuvants prepared from the total polar lipids of Haloferax volcanii, Planococcus spp. and Bacillus firmus differ in ability to elicit and sustain immune reposes. Vaccine, 2004; 17-18 (22): 2154-2162.

22. "The History of Cancer". American_Cancer_Society. 2002-03-25. Retrieved 2006-10-09.
23. Tsong-Long H, Woan-Ruoh L, Shu- Chiou H, Jia- You F. Cisplatin Encapsulated in Phosphatidyl Ethanolamine Liposomes Enhances the In Vitro Cytotoxicity and In Vivo Intratumor Drug Accumulation Against Melanomas. J Dermatol Sci. 2007; 46: 11- 20.
24. Uchino H, Matsumura Y, Negishi T, Koizumi F, Hayashi T, Honda T, Nishiyama N, Kataoka K, Naito S, Kakizoe

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.13.5]

T. Cisplatin-incorporating polymeric micelles (NC-6004) can reduce nephrotoxicity and neurotoxicity of cisplatin in rats. Br J Cancer. 2005 Sep 19;93(6):678-87.

25. Wang X, Yang L, Chen ZG, Shin DM. Application of nanotechnology in cancer therapy and imaging. CA Cancer J Clin. 2008 Mar-Apr;58(2):97-110. doi: 10.3322/CA.2007.0003. Epub 2008 Jan 28.
26. Working P K, Newman M S, Sullivan T, Brunner M, Podell M, Sahenk Z, Turner N. Comparative Intravenoustoxicity of Cisplatin Solution and Cisplatin Encapsulated in Long-Circulating Pegylated Liposomes in Cynomolgus Monkeys. J Toxical Sci. 1998; 46: 155- 165.
27. Xu P, Van Kirk EA, Li S, Murdoch WJ, Ren J, Hussain MD, Radosz M, Shen Y. Highly stable core-surface- cross-linked nanoparticles as cisplatin carriers for cancer chemotherapy. Colloids Surf B Biointerfaces.
28. Zhang X, Yang H, Gu K, Chen J, Rui M, Jiang GL. In vitro and in vivo study of a nanoliposomal cisplatin as a radiosensitizer. Int J Nanomedicine. 2011;6:437-44.
29. Zhen-zhen L, Ping C, Zhen-Duo L, Shu-de C, Zi-ming D. Enrichment of Breast Cancer Stem Cells Using a eratinocyte Serum-Free Medium. Chin Med J. 2011;124:2934-2936

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.13.5]