مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هشتم، شماره سی ام - بهار۱۳۹۷

Research Article
مقاله تحقیقی

# سنتز دوکسوربیسین 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 عموعابدینی* [۱]، سعیده رجائی نجف آبادی [۳]، 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 پایلوت بوبیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

## چکیده

**سابقه و هدف:** نیوزوم‌ها به‌دلیل نیمه‌عمر 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 دوکسوربیسین 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 به‌منظور تعیین غلظت بهینه دارو، غلظت‌های مختلف داروی دوکسوربیسین رقیق شده با آب مقطر به‌کار 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 دوکسوربیسین 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 دوکسوربیسین آزاد استفاده شود. سامانه حاصل در مقابل سلول‌های سرطان مغز استخوان مؤثر است.

**واژه‌های کلیدی** : دوز مؤثر، نیوزوم، دوکسوربیسین، 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

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2022-05-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.5.0 ]

## مقدمه

دوکسوروبیسین[1] یکی از معمول‌ترین و شناخته شده‌ترین داروهای آنتی‌بیوتیک متعلق به خانواده آنتراسیکلین‌ها است و به‌عنوان عامل شیمی‌درمانی در جهت مبارزه علیه لوسمی‌ها و تومورها انسانی و حیوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۰) با این حال پتانسیل درمانی آن با دوز مسمومیت قلبی و سرکوب مغز استخوان[2] و عوارض جانبی نامطلوب محدود شده است. نتیجه این است که با توجه به بالا بودن سطح مسمومیت بافت‌های 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 می‌باشد (۱۶). به‌دلیل ناپایداری شیمیایی و فیزیکی لیپوزوم‌ها، نانونیوزوم‌ها مورد توجه بسیاری از محققان و شرکت‌های دارویی قرار گرفته است (۱۴).

نیوزوم‌ها امروزه به‌عنوان یکی از بهترین نانوذرات دارورسانی برای درمان سرطان می‌باشند که مزایای زیادی در مقابل به‌کارگیری داروی آزاد دارند. سایز کوچک نیوزوم‌ها (کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر)، پایداری بالا و نیمه‌عمر بالا در پلاسمای خون این امکان را برای رسانش عوامل شیمی درمانی به بافت توموری را ایجاد می‌کند. به‌دلیل این مزایا، استفاده از نانوذرات به‌طور قابل ملاحظه‌ای سمیت عوامل شیمی درمانی در برابر سلول‌های سالم را کاهش می‌دهد (۱۰).

نیوزوم‌ها وزیکول‌های تک لایه یا چند لایه می‌باشند که به‌وسیله سورفکتنت‌های غیر یونی ساخته می‌شوند که توانایی محصورسازی داروهای آب‌دوست و آب‌گریز را دارند (۱). در توسعه یک فرمولاسیون جدید دارویی پایداری یک عامل تعیین کننده می‌باشند که هزینه‌های تولید صنعتی را کاهش می‌دهد. نیوزوم یک نانو ذره ارزان با پایداری بالا به‌عنوان جایگزین لیپوزم می‌باشد (۱۱).

از نظر ترمودینامیکی، نیوزوم‌های خود تشکیل شونده نتیجه کاهش آنتروپی و انرژی آزاد گیبس به‌همراه آنتالپی مطلوب است که از فعل انفعال‌های وندروالس، نیروهای هیدروفوبیک، پیوند هیدروژنی و نیروهای الکتروستاتیک به‌وجود می‌آید. عوامل هندسی مثل لایه آبی، طول زنجیره لیپیدی، گیر افتادگی و به‌هم فشردگی زنجیره‌ای 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 می‌باشد (۱۵).

در پژوهش‌های متعددی محصور سازی داروی دوکسوربیسین در نانو ذره نیوزومی مورد بررسی قرار گرفته است. ایجامه و همکاران در سال ۱۹۹۵، بهبود فعالیت داروی دوکسوربیسین درون‌گیری 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، وزیکول‌های ساخته شده از سورفکتنت‌های غیر یونی (تری گلیسریل اتر$C_{16}$ ) همراه و بدون کلسترل، حاوی دوکسوربیسین تهیه کردند و توزیع و رهایش دوکسوربیسین در بدن موش را به دنبال مصرف دارو بررسی کردند (۱۳). برگاگنیا و همکاران در سال ۲۰۱۲، فرمولاسیون نیوزومی حاوی دوکسوربیسین عامل‌دار شده با قند مشتق شده از N- پالمیتیل گلوکوآمین برای مورد هدف قرار دادن مغز برای رسانش عوامل شیمی‌درمانی را مورد بررسی قرار دادند (۲).

در پژوهش حاضر ضمن تهیه فرمولاسیون نیوزومی، برای اولین بار غلظت بهینه داروی آب‌دوست دوکسوربیسین جهت درون‌گیری در نانوذرات نیوزومی بررسی شده است. هم‌چنین الگوی رهایش دارو، شاخص پراکندگی، سایز و میزان درون‌گیری دارو مطالعه شده است. در ادامه سمیت سامانه حاصل بر روی رده سلول سرطانی مغز استخوان بررسی شده است.

## مواد

[1] Doxorubicin
[2] Myelosuppression



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2022-05-17 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.5.0 ]

دوکسوربیسین هیدروکلراید (داکس) از Ebewe Pharma اتریش خریداری شد. سورفکتنت 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 [3](خلوص بیش از ۹۹ درصد) بوده و بدون خلوص بیش‌تر استفاده شدند.

## روش‌ها

### فرمولاسیون نیوزوم حاوی دوکسوربیسین

نیوزوم‌ها با فرمولاسیون ارائه شده در جدول۱ طبق روش آبپوشانی لایه نازک تهیه گردیدند.

جدول ۱- فرمولاسیون نیوزومی حاوی دوکسوربیسین

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

به‌طور 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، هیدارته کردن فیلم در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت۶۰-۳۰ دقیقه و توسط داروی دوکسوربیسین ۲ mg/ml رقیق شده با مقادیر مختلف آب استریل تزریقی صورت گرفت. در این مرحله غلظت‌های مختلف دارو به عنوان پارامتر کمی و کیفی مورد استفاده قرار گرفت تا اثر غلظت مولکول‌های دوکسوربیسین در تماس با لایه‌های 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 به‌وسیله دستگاه روتاری تبخیر کننده (Heidolph, Germany) صورت گرفت. پس از تشکیل وزیکول‌های نیوزومی حاوی دوکسوربیسین برای کاهش اندازه نیوزوم-های MLV و تشکیل SUV از روش سونیکاسیون استفاده گردید، پروب دستگاه سونیکه کننده در داخل محلول کلوئیدی 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 (12-14 kDa, Sigma, cut off: Germany) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط تاریک صورت گرفت.

### مشخصه‌یابی فرمولاسیون نیوزومی حاوی دوکسوربیسین

**بازده محصور سازی دوکسوربیسین درون نیوزوم:**

دوکسوربیسین درون‌گیری شده در نیوزوم‌ها داخل کیسه دیالیز سلولزی قرار داده شدند تا داروی‌های آزاد آن جدا شود. مقدار دوکسوربیسین انکپسوله شده درون نیوزوم‌ها با استفاده از UV Spectrophotometer (T80+ Model, PG Instruments UK) در طول موج ۴۸۰ nm بعد ازهضم و شکستن غشای نیوزومی با ایزوپروپانول (خلوص ۹۹٪) مورد بررسی قرار گرفتند. هم‌چنین نمودار استاندارد دوکسوربیسین در ۴۸۰ nm به‌منظور تعیین رابطه میان غلظت دوکسوربیسین و جذب آن با استفاده از سری‌رقت دوکسوربیسین در محلول ایزوپروپانول رسم گردید. بازده درون‌گیری از رابطه (۱) محاسبه می‌شود (۵).

رابطه (۱)

$$\text{بازده درون گیری} = \frac{\text{میلی گرم داروی کپسول شده}}{\text{میلی گرم داروی اولیه}} \times ۱۰۰$$

**اندازه گیری اندازه ذرات و شاخص پراکندگی:۱۰۰**

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

[3] Analytic grade



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2022-05-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.5.0 ]

**بررسی آزمایشگاهی رهایش دوکسوربیسین:**

رهایش دوکسوربیسین از نیوزومها به‌وسیله دیالیز ( MW cut off=12 kDa,) در برابر PBS به‌مدت ۱۴۴ ساعت در دمای ۳۷ و pHهای ۷/۵ مورد سنجش قرار گرفت. به‌منظور محاسبه رهایش دوکسوربیسین، بافر اطراف کیسه دیالیز در زمان‌های متفاوت جمع آوری و بلافاصله با همان حجم از PBS تازه جایگزین شد. نمونه‌ها با استفاده ازUV Spectrophotometer در طول موج nm ۴۸۰ آنالیز شدند. بر اساس کل غلظت اولیه داروی فرمولاسیون نیوزومی، درصد رهایش در هر فاصله زمانی محاسبه شد.

## تعیین سمیت سلولی

سلول‌های KG-1 از انستیتو پاستور ایران (تهران، ایران) تهیه شدند. سلول‌ها در انکوباتور در دمای °C ۳۷ و محیط حاوی ۵ درصد کربن دی اکسید و هوای مرطوب در محیط کشت DMEM (گیبکو، آمریکا ) غنی شده با سرم ۱۰٪ جنینی گاوی رشد کردند. سمیت سلولی با روش MTT برای فرمولاسیون مطالعه شده به‌کار گرفته شد. به‌منظور اندازه‌گیری سمیت، سلول‌های KG-1 سرطان مغز استخوان به‌طور جداگانه با غلظت $10^4$ در هر چاهک در پلیت ۹۶ تایی به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس سلول‌ها با حجم یکسانی از محیط کشت تازه تیمار شدند (حجم یکسانی از محیط کشت تازه اضافه شد) و غلظت‌های متفاوتی از داروی دوکسوربیسین آزاد و نیوزوم حاوی دوکسوربیسین (۱، ۲/۵ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به‌صورت چهار بار تکرار در چاهک‌ها تزریق شدند. پس از آن دوباره به‌مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس میزان ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر چاک اضافه شد و به‌مدت ۳ ساعت انکوبه شدند. بعد از آن مایع رویی خارج شد و به‌منظور حل کردن کریستال‌های 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.

## آزمون‌های آماری

تمامی آزمایش‌ها به‌صورت سه بار تکرار صورت گرفت. سطح معنی‌داری آماری (p-value) متغیرهای مورد بررسی به‌وسیله one-way ANOVA نرم افزار Graph Pad Prism (GraphPad Software, CA, USA) تعیین گردید.

## یافته‌ها

پس از ساخت سه فرمولاسیون نیوزومی، هیدارته کردن با سه غلظت مختلف دارو صورت می‌گیرد 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 آن‌ها 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.

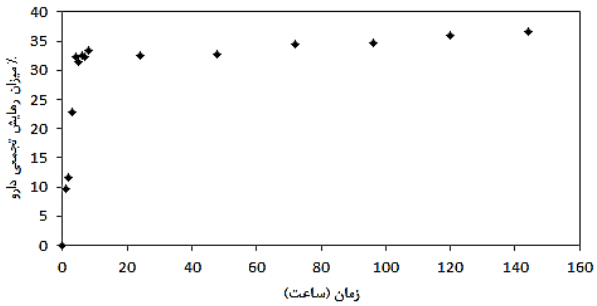
جدول ۲- مقایسه فرمولاسیون‌های مختلف نیوزومی حاوی دوکسوربیسین

| کد فرمول | محصور سازی دارو (٪) | سایز (nm) | شاخص پراکندگی (PDI) |
|---|---|---|---|
| F1 | ۶۷/۲۴ | ۱۵۱/۲ | ۰/۱۹۳ |
| F2 | ۷۴/۴۱ | ۱۴۵/۶ | ۰/۱۲۳ |
| F3 | ۸۱/۶۹ | ۱۰۲/۹ | ۰/۱۲۸ |

با کاهش شاخص پراکندگی نانوذرات، با افزایش دوز دارو، توده-ای شدن نانوذرات کاهش می‌یابد و در مقایسه با سایر فرمول‌ها در دراز مدت پایداری بیش‌تری را برای نانوذرات فراهم می‌کند. شکل -۱ نمودار رهایش دارو در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و pH= ۷/۴ (شرایط فیزیولوژیک) را نشان می‌دهد. با بررسی پروفایل رهایش ۱۴۴ ساعته دارو یافت می‌شود فرمولاسیون تهیه شده آهسته رهش می‌باشد و طی ۱۴۴ ساعت ۳۵ درصد از داروی محصور سازی شده رها می‌شود و پس از آن دارو به کندی آزاد می‌شود.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2022-05-17 ]

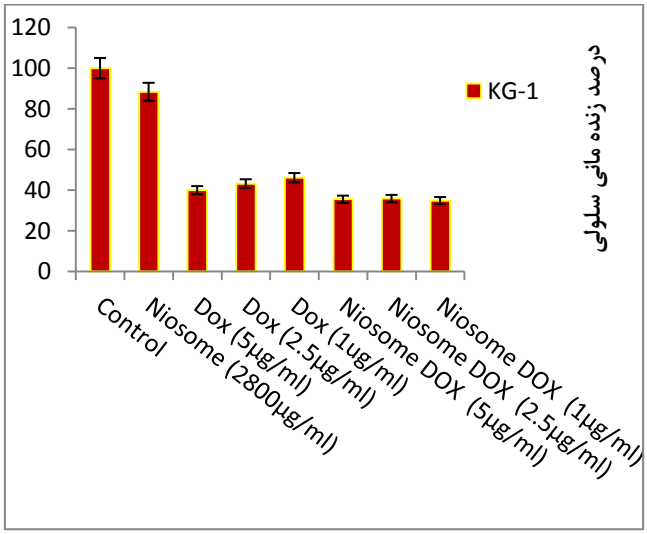
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.5.0 ]




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

## بررسی سمیت سلولی

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




شکل ۲- مقایسه درصد زنده‌مانی با دوکسوربیسین آزاد و دوکسوربیسین محصور شده.

## بحث

سرطان به‌عنوان مجموعه‌ای از بیماری‌هایی شناخته می‌شود که از اختلال‌های ژنتیکی پیشرفته مشتق می‌شوند و هر ساله بیش از ده میلیون نفر از مردم سراسر دنیا به این بیماری کشنده مبتلا شده و بیش از نیمی از آن‌ها جان خود را در اثر سرطان از دست می‌دهند.

روش‌های درمانی فعلی برای سرطان به‌ویژه برای بیماری‌های متاستاز اغلب به اندازه کافی مؤثر نیست. سمیت درمانی ایجاد شده در اثر استفاده از داروهای شیمی درمانی در بخش‌های مختلف بدن باعث بروز بسیاری از عوارض جانبی مضر در بیمارن شیمی درمانی می‌شود که اثر بخشی محدود دارد ولی در همان حال کیفیت زندگی فرد بیمار را کاهش می‌دهد و او را تحت تأثیر عوارض دردناک شیمی درمانی قرار می‌دهد. پوشش دار کردن داروی شیمی درمانی به‌وسیله نانوذرات مختلف منجر می‌شود 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 سلول‌های سالم را تا حد زیادی کاهش می‌دهد (۱۲).

لیپوزوم‌ها وزیکول‌های فسفولیپید کروی چند لایه هستند که زیست سازگاری و توانایی درون‌گیری هم‌زمان چند دارو با طبیعت آب‌دوستی متفاوت از ویژگی‌های بارز آن‌ها است ولی با این حال ناپایداری و حجم کم داروی بارگذاری شده در آن‌ها از مشکلات مربوط به این نانوذرات است. نیوزوم‌ها پیشنهاد خوبی برای جایگزینی و پوشش دادن مشکلات مربوط به لیپوزوم‌ها است چرا که نیوزوم‌ها ساختاری شبیه لیپوزوم دارند ولی بسیار پایدار هستند و توانایی درون‌گیری حجم زیادی دارو به‌صورت هم‌زمان را دارند (۱۰).

علی‌رغم این که سامانه‌های در مقیاس میکرو می‌توانند از داروها در برابر تجزیه به خوبی محافظت کنند و اثر جانبی دارو را کم می‌کنند ولی به‌طور کلی فعالیت ضد سرطانی آن‌ها را افزایش نمی‌دهند. درحالی‌که سیستم تحویل در مقیاس نانو به دلیل دارا بودن اندازه کوچک‌تر 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



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2022-05-17 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.5.0 ]

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 به‌دلیل 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 آبپوشی شد و هم باعث کاهش سرعت رهایش دارو شد و سامانه پایدارتری را فراهم می‌سازد (۱۴).

زنجیر سفت و محکم کلسترول در ساختار، لیپوزوم و نیوزوم را پایدارتر 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 می-برد. این امر میزان درون‌گیری نهایی دارو را پایین می‌آورد. در غلظت‌های بالای کلسترول، زنجیره آسیل محدود کننده آزادی حرکت زنجیره 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 دوکسوربیسن 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 دوکسوربیسین کوچک هستند، رهایش آهسته دارو به خاطر محدودیت عبور دارو از کیسه دیالیز نیست بلکه به‌خاطر خود غشا و ممانعت آن در مقابل رهایش به‌یک‌باره 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 دوکسوربیسین 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 میلی‌گرم 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

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2022-05-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.5.0 ]

است شیمی درمانی با شکست مواجه شود که آن هم به‌علت رسیدن دوز پایین‌تر از دوز کشنده به سلول‌های توموری است که این امر موجب پایداری دارویی سلول‌های سرطانی می‌شود. پایداری دارویی مکانیسم پیچیده‌ای 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 دوکسوربیسین شده است. بر این اساس داروی دوکسوربیسین با کپسوله شدن ضمن کاهش اثرات جانبی و کاهش متابولیسم در بدن، سمیت آن افزایش یافته است. براساس نتایج هم‌چنین یافت می‌شود که نانو ذره بدون دارو سمیت ناچیزی دارد که زیست سازگاری سامانه را تایید می‌کند.

## نتیجه‌گیری

نتایج تأیید کننده این مساله هستند که فرمولاسیون نیوزومی بهینه آهسته رهش می‌باشد و به‌صورت کنترل شده داروی دوکسورببیسین از سامانه رها می‌شود هم‌چنین غلظت بهینه دارو نسبت به سایر غلظت های مورد مطالعه در پژوهش حاضر کم‌ترین مقدار می‌باشد که هم از نظر اقتصادی بهینه است و هم درمصرف بالینی، دوز کم‌تر دارو با بیش‌ترین اثر وارد بدن بیمار می‌شود و در نتیجه سلول‌های سالم کم‌تر مورد آسیب دوکسوربیسین با غلظت بالا می‌شوند.

## 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 همکاری‌های علمی تقدیر و تشکر می‌گردد. از سرکار خانم دکتر فاطمه منتظری، پژوهشگر پژوهشکده علوم تولید مثل استان یزد جهت همکاری‌های علمی تشکر می‌گردد.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2022-05-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.5.0 ]

# 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. Haghiralsadat, 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. Haghiralsadat, 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. Haghiralsadat, 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.


[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2022-05-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.5.0 ]