

وین کریستین نیوزومی، سامانه‌ای مؤثر در دارورسانی به سرطان غدد لنفاوی

محمد رضا مهرابی^۱، محسن چیانی^۱، داریوش نوروزیان^۱، محمدعلی شکرگزار^۲، امیر امان‌زاده^۲، طیبه تولیت^۳، عظیم اکبرزاده^{۳*}

۱. بخش نانوبیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران

۲. بخش بانک سلولی، انستیتو پاستور ایران

۳. بخش فراماسوتیکس، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: وین کریستین یک داروی ضدسرطان با منشاء گیاهی بوده که در درمان طیف وسیعی از سرطان‌ها از جمله لنفوما کاربرد دارد. نیوزوم‌ها از حامل‌های مهم دارورسانی هستند. هدف از این مطالعه تهیه فرم نانونیوزومه پگیله وین کریستین به منظور افزایش اثربخشی آن در درمان سرطان غدد لنفاوی است.

مواد و روش‌ها: فرمولاسیون نانونیوزومه پگیله وین کریستین به روش فیلم نازک تهیه شد. ویژگی‌های مانند اندازه، پتانسیل زتا، میزان احتباس و رهش دارو، پایداری و اثر سایتوتوکسیک آن بر رده سلولی Raji مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور اندازه‌گیری اندازه و بار نانوذرات به روش پراکنش نور پویا، رهش دارو از نیوزوم به روش انتشار از کیسه دیالیز و اثر سایتوتوکسیک نانوذرات نیوزومی وین کریستین با روش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: سایز و بار نانوذرات در حدود $118/1 \pm 2/3$ نانومتر و $21/5 \pm 1/2$ میلی‌ولت و میزان احتباس دارو برابر با $84/2 \pm 3/1$ درصد به دست آمد. اثر سایتوتوکسیک فرم نانونیوزومی دارو علیه سلول‌های Raji به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از داروی غیرنیوزومی محاسبه شد. مطالعه پایداری حاکی از پایداری نانوداروی نیوزومی طی دو ماه نگهداری بود. مطالعه رهش دارو از وزیکول‌های نیوزومی نشان داد که آزاد شدن دارو به‌صورت تدریجی صورت می‌گیرد این در حالی است که رهش داروی آزاد در کم‌تر از ۶ ساعت به حدود ۱۰۰ درصد می‌رسد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از نیوزوم به‌عنوان حامل دارورسانی تأثیر قابل توجهی بر کارایی ضدسرطانی وین کریستین دارد و می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای فرم عادی دارو معرفی گردد.

واژه‌های کلیدی: نیوزوم، وین کریستین، رهش کنترل شده، سایتوتوکسیسیته، رده سلولی Raji.

مقدمه

که شیمی درمانی نقش مهمی در درمان این بیماری دارد اما به دلیل داشتن عوارض جانبی بالا و ایجاد مقاومت درمانی محدود کننده است (۱۰،۱۲). وین کریستین که یک آلکالوئید گیاهی است که در طیف وسیعی از سرطان‌ها مانند لوسمی لنفوبلاستیک حاد، سرطان گردن رحم و سرطان سینه کاربرد دارد. مکانیسم اثر آن از طریق مهار سنتز میکروتوبول‌های در مرحله متافاز چرخه سلولی اعمال می‌شود (۹). کاربرد بالینی این

لنفوما نوعی بدخیمی مربوط به سلول‌های خونی است و چهار درصد از کل سرطان‌ها را به‌خود اختصاص می‌دهد (۱۸). هر چند

نویسنده مسئول:

بخش نانوبیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران
پست الکترونیکی: azimakbarzadeh@pasteur.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۱۰

هدف از این مطالعه تهیه فرم نیوزومی وین کریستین و ارزیابی اثر ضدسرطانی آن در رده سلولی Raji سرطان لنفوما است. برای این منظور فرمولاسیون نیوزومی داروی وین کریستین با موفقیت ساخته شد و خواص فیزیکوشیمیایی آن مانند سایز و بار نانوذرات، میزان احتباس، الگوی رهش دارو و اثر سایتوتوکسیک آن در رده سلولی لنفوما Raji مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

داروی وین کریستین سولفات از شرکت سبحان انکولوژی، span60، کلسترول، کلسترول-پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰ و MTT مورد استفاده در این تحقیق از شرکت سیگما آلدریج (آلمان) خریداری شد. ایزوپروپانول، متانول و کلروفرم از شرکت مرک و محیط و سایر مواد مورد نیاز کشت سلول از شرکت Invitrogen تهیه گردید. رده سلولی RAJI از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد.

رسم منحنی استاندارد

برای رسم منحنی استاندارد، غلظت‌های سریالی از استاندارد داروی وین کریستین تهیه و جذب نوری آن‌ها با کمک اسپکتوفتومتر در طول موج جذبی دارو وین کریستین ۲۹۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس با توجه به غلظت‌های سریالی و جذب متناظر آن‌ها، منحنی استاندارد به کمک نرم‌افزار اکسل رسم و معادله آن جهت تعیین غلظت‌های مجهول مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه فرمولاسیون نانونیوزومی داروی وین کریستین

برای تهیه نانوذرات نیوزومی وین کریستین از روش هیدئاتاسیون لایه نازک استفاده شد. در این روش span60، کلسترول، کلسترول-پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰ و داروی وین کریستین به نسبت وزنی (۲۰۰ به ۱۰۰ به ۳۰ به ۳۰ میلی گرم) در مخلوط کلروفرم و متانول (نسبت ۱ به ۲) حل و سپس فاز حلال توسط دستگاه روتاری تحت شرایط خلا در درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد با چرخش ۱۰۰ دور در دقیقه، جدا گردید. فاز ژلوز باقی‌مانده به کمک بافر فسفات یک مولار با $\text{pH} = 7/4$ و درحالی‌که بر روی هم‌زن مغناطیسی قرار داشت، هیدراته گردید.

دارو به دلیل داشتن عوارضی مانند نوروپاتی، توزیع غیراختصاصی و شاخص درمانی پایین محدود است. لذا به منظور بهبود عملکرد و کاهش عوارض جانبی این دارو لازم است از شیوه‌های نوین دارورسانی استفاده شود.

با پیشرفت داروسازی، سیستم‌های قدیم یا متداول دارورسانی دیگر پاسخ‌گوی نیازهای دارو-درمان نبود و در نتیجه، به تدریج سیستم‌های نوینی ابداع گردید که توانسته است تا حد زیادی بر مشکلات و محدودیت‌های این حوزه فایق آید. این سیستم‌ها بر بارگیری، آزادسازی، مقدار و نحوه تجویز و ویژگی‌های فارماکوکینتیک دارو دارو مؤثر بوده و حتی توانسته‌اند اشکال دارویی جدیدی را معرفی نمایند که پیش از این وجود نداشته است.

هدف از سیستم‌های نوین دارورسانی، افزایش تحویل دارو در منطقه موردنظر و کاهش اثرهای آن بر بافت‌های غیرهدف یا سالم است (۲۰). سیستم‌های نوین دارورسانی سبب حفاظت، افزایش زیست‌فراهمی، رهش آهسته یا کنترل شده دارو در نقاط هدف می‌شوند. نیوزوم یکی از حاملین دارورسانی است که زیست‌تخریب‌پذیر، زیست‌سازگار و دارای ایمونوژنیسیتهی پایین است. از طرفی روش تهیه آن‌ها آسان و ارزان بوده و از نظر ساختاری پایدار هستند. نیوزوم‌ها وزیکول‌ها یا ساختارهای لایه-لایه هستند که از سورفاکتانت‌های غیریونی آلکیل یا دی‌آلکیل، پلی‌گلیسرول اتر و کلسترول تشکیل شده‌اند و از سیستم‌های نوین دارورسانی به‌شمار می‌آیند (۱).

در مقایسه با سایر سیستم‌های دارورسانی مانند لیپوزوم‌ها و پلی‌مرها، نیوزوم‌ها دارای مزیت‌هایی از جمله روش‌های تهیه آسان‌تر، هزینه تولید پایین‌تر، ساختار انعطاف‌پذیر و به دلیل طبیعت غیریونی سمیت پایین‌تری دارند. از لحاظ حلالیت، نیوزوم‌ها می‌توانند طیف وسیع‌تری از داروها شامل داروهای هیدروفیل و لیپوفیل را با خود حمل نمایند (۱۴).

به دلیل مزایای به نسبت زیاد نیوزوم، از آن‌ها در زمینه‌های مختلف پزشکی، تشخیص و مواد آرایشی بهداشتی استفاده می‌شود. کاربرد آن‌ها در زمینه دارورسانی نیز روز به روز در حال گسترش است و فرآورده‌های دارویی جدیدی از آن‌ها تهیه و در زمینه‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است.

مطالعه رهایش دارو از نانوذرات نیوزومی با استفاده از روش انتشار دینامیکی از غشا دیالیز انجام شد. به این ترتیب که مقدار معینی از فرمولاسیون نانونیوزومی وین کریستین و داروی آزاد را در داخل کیسه دیالیز ریخته و سپس این کیسه در داخل ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات (pH= 7.4, 1M) قرار گرفته و بر روی یک همزن مغناطیسی به مدت ۳۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گذاشته می شود. در فواصل زمانی مختلف مقدار ۲ میلی لیتر از بافر برداشته شده و سپس با همان مقدار بافر تازه جایگزین می گردد و سپس جذب داروی آزاد شده در فواصل زمانی مختلف را در طول موج ۲۹۷ نانومتر خوانش شده و به کمک معادله منحنی استاندارد میزان دارو آزاد شده در فواصل زمانی مختلف تعیین می شود.

بررسی سمیت سلولی داروی وین کریستین نانو نیوزوم

میزان سایتوتوکسیسیته نانوذرات نیوزومی وین کریستین با آزمون MTT

[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور، یکصد میکرولیتر محیط کشت RPMI 1640 حاوی ده هزار سلول RAJI را در چاهک های پلیت ۹۶ خانه ریخته و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و با میزان ۵ درصد دی اکسید کربن به مدت ۲۴ ساعت انکوبه می شود. پس از این مدت، محیط رویی سلول ها را برداشته و غلظت های مختلف از فرمولاسیون نانونیوزوم دارو، کنترل آن و داروی آزاد را بر روی سلول ها ریخته و به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در شرایط ذکر شده انکوبه شد، سپس محلول رویی را برداشته و محلول (0.5 mg/ml, 100 µl) MTT اضافه شد و پس از ۳ ساعت انکوباسیون، رنگ ارغوانی (مربوط به تشکیل فرمازان) در سلول های زنده در ۲۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول حل شده و جذب آن ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری می شود و میزان IC50 با استفاده از نرم افزار Pharm-PCS (Springer Verlag, USA) software تعیین می گردد.

بررسی پایداری نانوذرات

پایداری نانوذرات نیوزومی در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد برای مدت دو ماه مورد ارزیابی قرار گرفت. طی این مدت،

جهت همگن سازی اندازه ذرات و افزایش راندمان احتباس و بارگذاری دارو، سوسپانسیون حاصله به مدت ۵ دقیقه حمام سونیکه (BANDELIN electronic, SOROREX) (DIGITEC, Germany, 25°C, 60 W) گردید. سپس برای رسیدن به تعادل و جهت انجام آزمایش های بعدی در یخچال قرار گرفت.

اندازه گیری قطر و پتانسیل نانوذرات

میانگین قطر و پتانسیل زتای نانوذرات به روش پراکنش نور پویا (DLS) و با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Nano Series, ZS3600, Malvern Instruments, UK) تعیین گردید. برای این منظور غلظت مشخصی از نانوذره (یک دهم میلی گرم بر میلی لیتر) تهیه و پس از اندازه گیری pH آن به کمک دستگاه زتاسایزر در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی شکل یا مرفولوژی نانوذرات

برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیوزومی بر روی لایه ای از میکا قرار گرفت و قبل از این که به طور کامل خشک شود توسط میکروسکوپ نیروی اتمی (Full Plus-Multi Mode, Ara Research Company, Iran) مشاهده و تصویربرداری گردید. تصویربرداری از نانوذرات در حالت یا مد غیرتماسی انجام گرفت.

تعیین درصد کپسوله شدن دارو

بازده انکپسولاسیون دارو با استفاده از اولتراسانتریفیوژ تعیین گردید. برای این منظور مقدار داروی انکپسوله نشده در نیوزوم توسط اولتراسانتریفیوژ (۴۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت یک ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد) جدا شد. پس از سانتریفیوژ، مقدار دارو موجود در سوپرناتانت در طول موج ۲۹۷ نانومتر اندازه گیری و سپس به کمک منحنی استاندارد تعیین غلظت گردید. در نهایت با استفاده از معادله زیر درصد انکپسولاسیون دارو به دست آمد (۲).

$$EE \% = \text{encapsulated drug} / \text{total drug} \times 100$$

بررسی رهایش دارو به صورت برون تنی

پارامترهایی مانند، سایز، بار، درصد انکپسولاسیون به عنوان موارد مرتبط با پایداری اندازه گیری شد.

آنالیز آماری

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شد (SE, n=3). داده ها به وسیله آنالیز آماری واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS software version 20 آنالیز گردید و $p < 0.05$ معنی دار تلقی شد.

نتایج

تعیین ویژگی های نانوذرات نیوزومی وین کریستین

بررسی شکل یا مرفولوژی نانوذرات با استفاده میکروسکوپ نیروی اتمی حاکی از یک دست بودن سایز و توزیع اندازه و هم-چنین کروی بودن آن ها بود (شکل ۱). میانگین سایز و بار نانوذرات که با استفاده از دستگاه زتا سایزر اندازه گیری شد نشان داد که میانگین سایز یا قطر هیدرودینامیکی نانوذرات حدود $2/3 \pm 118/1$ نانومتر و میانگین پتانسیل زتای آن ها حدود $21/5 \pm 1/2$ میلی ولت است. بازه انکپسولاسیون دارو در وزیکول های نیوزومی برابر با $84/2 \pm 3/1$ درصد به دست آمد.

ارزیابی رهش دارو

مقدار رهش دارو از فرمولاسیون نیوزومی با روش انتشار از غشاء دیالیز انجام شد. نتایج آن در شکل ۲ آمده است. مقدار رهش دارو از وزیکول های نیوزومی در بازه زمانی ۳۶ ساعت برابر با $56/5 \pm 3/4$ به دست آمد در حالی که مقدار رهش داروی غیرنیوزومی یا فرم آزاد وین کریستین در کم تر از ۶ ساعت از شروع انکوباسیون به حدود ۱۰۰ درصد رسید.

بررسی سایتوتوکسیسیتی به روش برون ننی

میزان اثر سایتوتوکسیک فرم نیوزومال دارو در مقایسه با فرم آزاد آن بر رده سلولی Raji به صورت IC50 در شکل ۳ آمده است. میزان IC50 غلظتی از دارو یا فرمولاسیون دارویی است که باعث مهار رشد در ۵۰ درصد از سلول های تحت کشت شود. همان طور که دیده می شود میزان IC50 فرم نیوزومال وین کریستین پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون به طور معنی داری کم تر از فرم آزاد دارو است و این بدین معنی است که اثر سایتوتوکسیک فرم نیوزومال وین کریستین بیش تر از فرم آزاد دارو است.

مطالعه پایداری

بررسی پایداری فرم نیوزومی وین کریستین در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل ۴ نشان داده شده است. همان طور از شکل پیداست، تغییرهای سایز و بار نانوذرات در بازه زمانی دو ماه در دمای یخچال و دمای اتاق ناچیز بوده و اختلاف معنی داری نشان نمی دهد. میزان داروی انکپسوله زمانی که فرمولاسیون در دمای اتاق باشد به میزان بیش تری کاهش می یابد. هرچند که میزان کاهش احتباس دارو در دمای اتاق نسبت به دمای ۴ درجه سانتی گراد معنی دار نبود ولیکن میزان نشت دارو از فرمولاسیونی که در دمای اتاق قرار گرفته بود پس از ۲ ماه نسبت به روز اول آن اختلاف معنی داری نشان داد. طی این مدت تغییری در رنگ، حالت با بوی فرآورده دیده نشد و ساختار سوسپانسیونی آن پایدار بود.

بحث

دارورسانی نوین روش پیشرفته ای از دارورسانی است که مبتنی بر انتقال دارو با استفاده از حامل های دارورسانی است. حامل های دارورسانی دارای انواع متعددی هستند که به طور کلی می توان آن ها را در چهار گروه تقسیم بندی نمود: حامل های فلزی، حامل های پلی مری، حامل های بیولوژیک و حامل های لیپیدی. نانوحامل های لیپیدی از مهم ترین حامل ها در دارورسانی هستند و تاکنون داروهایی زیادی با این تکنولوژی وارد بازار شده اند (۲). نیوزوم ها یکی از انواع نانوحامل های لیپیدی هستند. از آنجاکه نیوزوم ها ترکیب های هستند ارزان قیمت، زیست سازگار، زیست-تخریب پذیر و کمابیش غیر ایمونوژن، از آن ها می توان به عنوان ابزار مناسبی جهت انتقال دارو و سایر ترکیب ها در صنایع مختلفی مانند داروسازی، آرایشی بهداشتی، کشاورزی و سایر صنایع وابسته به آن ها استفاده کرد (۶).

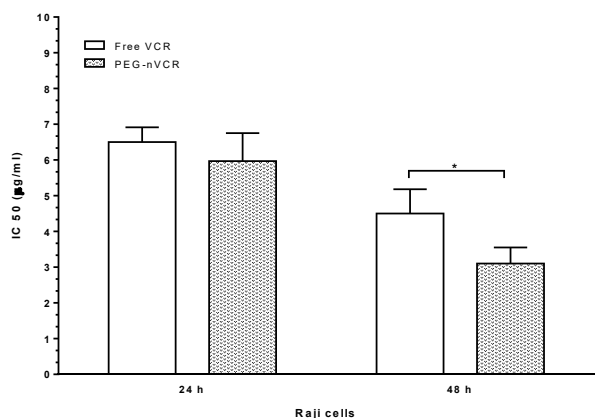
در این مطالعه فرم نیوزومی وین کریستین با موفقیت تهیه شد و از لحاظ خواص فیزیکوشیمیایی، اثرهای ضدسرطانی و الگوی رهش دارو مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از سایز و بار نانوذرات نشان داد که سایز و بار ذرات از نقطه دارورسانی در محدوده بسیار مطلوبی است. زیرا سایز و بار ذرات ارتباط مستقیمی با پایداری و برداشت سلولی آن ها دارد (۱۳).

Chunbai He^۱ و همکارانش نشان دادند که سایز و بار نانوذرات بر میزان برداشت و توزیع آن‌ها مؤثر است به طوری که با افزایش سایز میزان برداشت نانوذرات توسط سلول‌های فاگوسیت کننده افزایش می‌یابد. همچنین نانوذراتی که بار منفی متوسط (حدود ۱۵- تا ۲۵- میلی‌ولت) و اندازه کوچکتری دارند (حدود ۱۵۰ نانومتر یا کمتر) بهتر و بیشتر توسط سلول‌های سرطانی برداشت می‌شوند (۱۶). بررسی پایداری نیوزوم‌ها در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان داد که نانوذرات نیوزومی از نظر اندازه، بار سطحی و خواص ظاهری پایداری خود را مدت زمان مطالعه حفظ می‌نمایند. این مسأله را می‌توان به انتخاب درست و بهینه اجزاء تشکیل دهنده نیوزوم و پایداری آن‌ها مرتبط دانست (۱۹، ۸). میزان اثر سایتوتوکسیک فرم نیوزومی وین کریستین بر سلول‌های سرطانی لنفوما به طور قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر از فرم عادی دارو به دست آمد. علت این پدیده را می‌توان به نقش و تأثیر نیوزوم در افزایش کارایی دارو مرتبط دانست زیرا دارو در پوشش نیوزومی می‌تواند ارتباط مؤثرتری با سلول برقرار کند و به واسطه مکانیسم‌های مختلف به ویژه اندوسیتوز جذب سلول گردد. البته در اینجا اندازه و بار نیوزوم‌ها نیز تأثیر ویژه‌ای دارند. در مطالعه‌های دیگر نیز به تأثیر نیوزوم در افزایش اثر سایتوتوکسیک داروها اشاره شده است. به عنوان مثال امیری و همکاران اثر بخشی فرم نیوزومال وین بلاستین را بر رده سلولی TC-1 سرطان ریه و مدل موشی آن بررسی کردند. مطالعه‌های آنها نشان داد که در هر دو حالت، فرم نیوزومال دارو به طور معنی‌داری از رشد سلول‌های سرطانی و توموری جلوگیری می‌کند (۳). نتایج تحقیق دکتر شاکر و همکاران بر تأثیر فرم نیوزومی تاموکسیفن بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان نشان داد که این فرم در مقایسه با فرم آزاد به طور معنی‌داری میزان سایتوتوکسیسیته دارو را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، رشد تومور پستان را در مدل حیوانی نیز به طور محسوسی کاهش می‌دهد (۱۷). علاوه بر این، در مطالعه‌های دیگر نیز غالب بودن اثرهای ضد توموری فرم نیوزومال داروها نسبت به فرم عادی آنها اثبات شده است (۱۱، ۷).

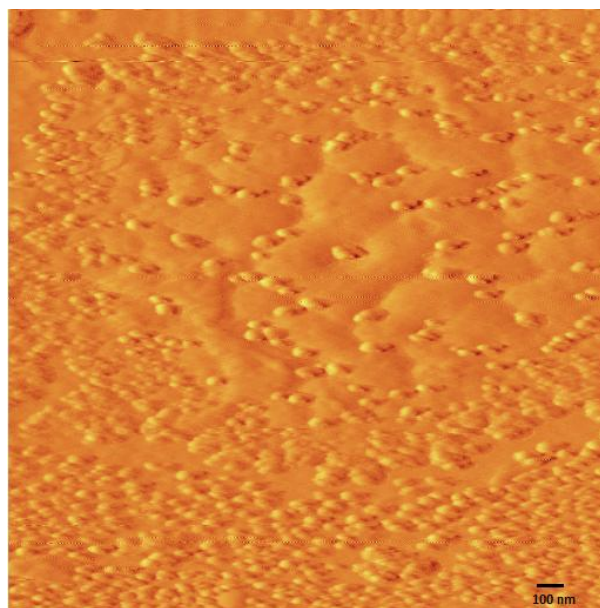
در ارزیابی رهش دارو از نانوذرات نیوزومی مشاهده شد که رهش دارو به طور کامل قابل توجهی کاهش می‌یابد و حالت پیوسته رهش پیدا می‌کند. این حالت سبب می‌شود که همواره مقداری از دارو در جریان خون وجود داشته باشد یعنی این که مدت زمان گردش خونی دارو افزایش می‌یابد. بنابراین می‌توان مقدار بیش‌تری از دارو را تجویز کرد بدون این که عوارض جانبی آن افزایش یابد. برتری اثر سایتوتوکسیک نانودارو نسبت به داروی آزاد بر علیه سلول‌های سرطانی لنفوما خود مؤید این مطلب است زیرا میزان IC50 نانودارو به طور معنی‌داری کم‌تر از IC50 داروی آزاد (به ویژه در زمان ۴۸ ساعت) است.

تأثیر حامل‌های دارویی از جمله نیوزوم‌ها بر کاهش روند آزادسازی دارو یا ترکیب‌های احتباس شده اثبات شده است. به عنوان مثال در دو مطالعه‌ای که در بالا اشاره شد (امیری و شاکر) این مسأله اشاره شده است. علاوه بر این، در مطالعه‌های دیگر نیز به تأثیر نیوزوم‌ها بر کاهش رهش، پیوسته رهش کردن و رهش کنترل شده دارو اشاره شده است (۱۵، ۵، ۴).

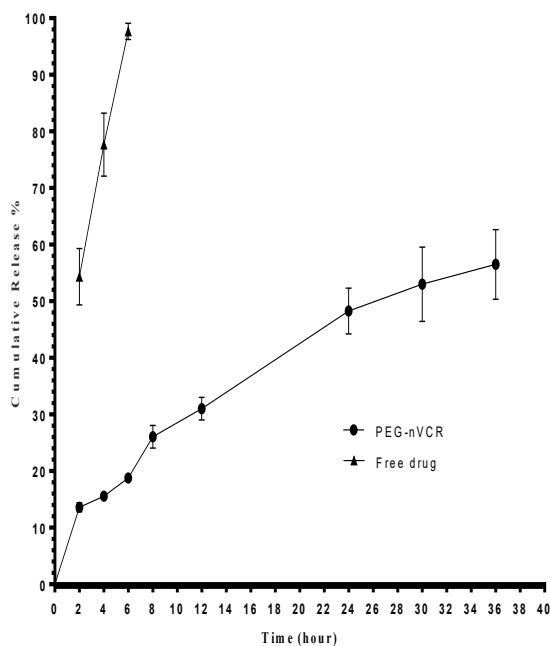
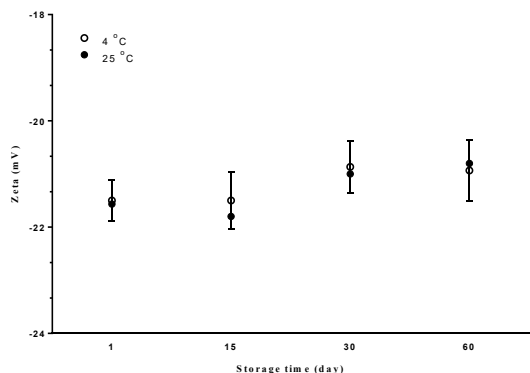
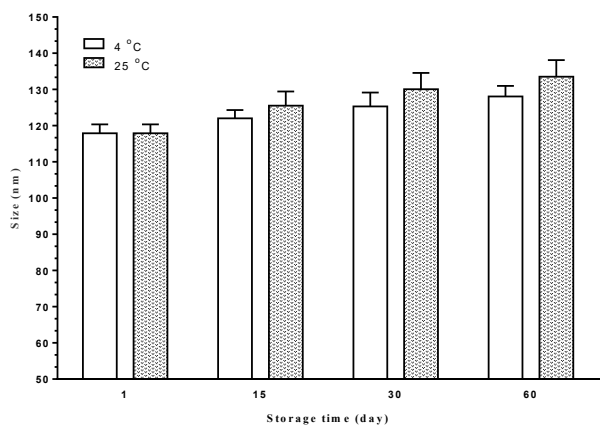
روی هم‌رفته نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از نیوزوم به عنوان حامل دارورسانی نقش مهمی در بهبود خواص فیزیکیوشیمیایی داروی وین کریستین داشته و سبب افزایش اثربخشی آن در سرطان لنفوما می‌گردد. مطالعه‌های بیش‌تر در خصوص بررسی کارایی آن در مدل حیوانی نیز در دست بررسی است که در صورت دست‌یابی به نتایج مناسب، این فرمولاسیون می‌تواند پس از طی کارآزمایی‌های بالینی به عنوان جایگزینی برای فرم عادی دارو مطرح گردد.



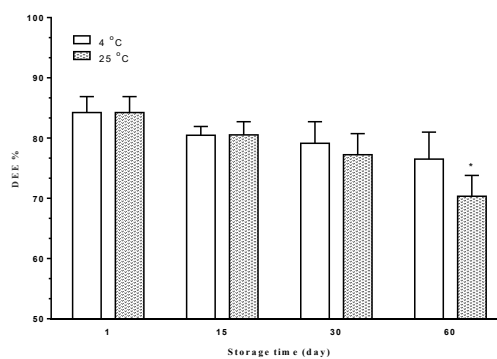
شکل ۳: بررسی میزان سایتوتوکسیسیته نانوذرات نیوزومی وین کریستین بر رده سلولی Raji سرطان لنفوما. این آزمون به روش MTT و در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت انجام شد. اختلاف معنی داری بین میزان IC50 نانوذرات نیوزومی دارو و داروی آزاد پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون دیده می شود. نتایج حاصل سه بار تکرار بوده و به صورت میانگین \pm خطای استاندارد گزارش شده است ($p < 0.05$).



شکل ۱: بررسی مورفولوژی نانوذرات نیوزومی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی. همان طور که دیده می شود شکل ذرات کروی و سایزی حدود ۱۰۰ نانومتر دارند.



شکل ۲: بررسی رهش دارو از فرمولاسیون نیوزومی. رهش دارو از نانوذرات نیوزومی به صورت آهسته صورت گرفت به طوری که پس از ۳۶ ساعت به حدود ۵۶ درصد رسید. این در حالی بود که رهش داروی غیر نیوزومی یا داروی آزاد به طور معنی داری سریع تر بود و در زمان کم تر از ۶ ساعت به ۱۰۰ درصد رسید. نتایج حاصل سه بار تکرار بوده و به صورت میانگین \pm خطای استاندارد گزارش شده است.



شکل ۴: بررسی پایداری نانوذرات نیوزومی. این نانوذرات در سه پارامتر (سایز، پتانسیل زتا و درصد آنکپسولاسیون) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج پایداری فرمولاسیون نیوزومی دارو در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد، نشان داد که سایز ذرات و میزان پتانسیل زتا تغییر محسوسی ندارد ولیکن میزان یا درصد احتباس دارو پس از گذشت دوماه از ساخت فرمولاسیون، در شرایطی که در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد باشد به‌طور معنی‌داری نسبت به زمان ساخت کاهش می‌یابد. نتایج میانگین سه بار تکرار بوده و بارها نشان-دهنده خطای استاندارد است ($P < 0.05$).

منابع

1. Abhinav K, Lal PJ, Amit J, Vishwabhan S. Review on niosomes as novel drug delivery system. *Int Res J Pharm*. 2011; 2: 61-65.
2. Amiri B, Ahmadvand H, Farhadi A, Najmafshar A, Chiani M, Norouzian D. Delivery of vinblastine-containing niosomes results in potent in vitro/in vivo cytotoxicity on tumor cells. *Drug Dev Ind Pharm*. 2018; 44: 1371-1376.
3. Amiri B, Ebrahimi-Far M, Saffari Z, Akbarzadeh A, Soleimani E, Chiani M. Preparation, Characterization and Cytotoxicity of Silibinin-Containing Nanoniosomes in T47D Human Breast Carcinoma Cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016; 17: 3835-8.
4. Asgharkhani E, Fathi Azarbayjani A, Irani S, Chiani M, Saffari Z, Norouzian D, Akbarzadeh A, Atyabi SM. Artemisinin-loaded niosome and pegylated niosome: physico-chemical characterization and effects on MCF-7 cell proliferation. *J Pharm Invest*. 2018; 48: 251-256.
5. Bartelds R, Nematollahi MH, Pols T, Stuart MCA, Pardakhty A, Asadikaram G, Poolman B. Niosomes, an alternative for liposomal delivery. *PLoS ONE*. 2018; 13: e0194179.
6. Bobo D, Robinson KJ, Islam J, Thurecht KJ, Corrie SR. Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date. *Pharm Res*. 2016; 33: 2373-87.
7. Dwivedi A, Mazumder A, Plessis L, Preez LJ, Haynes KR, Plessis J. In vitro anticancer effects of artemisone nano-vesicular formulations on melanoma cells. *Nanomed Nanotechnol*. 2015; 11: 2041-2050.
8. He C, Hu Y, Yin L, Tang C, Yin C. Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Biomaterials*. 2010. 31, 3657-3666.
9. Kassem LA, Gamal El-Din MM, Yassin NA. Mechanisms of vincristine-induced neurotoxicity: Possible reversal by erythropoietin. *Drug Discov Ther*. 2011; 5: 136-143.
10. Knapp CM, Whitehead KA. In pursuit of a moving target: nano therapeutics for the treatment of non-Hodgkin B-cell lymphoma. *Expert Opin Drug Deliv*. 2014; 11: 1923-1937.
11. Leila K, Vida H, Azim A, Nafiseh BB. Effect of Carboplatin Loaded Niosomal Nanoparticles on Ovarian Cancer Cells. *EC pharm toxicol*. 2018; 6(6): 423-428.
12. Li H, Guo K, Wu C, Shu L, Guo S, Hou J, Zhao N, Wei L, Man X, Zhang L. Controlled and targeted drug delivery by a UV responsive liposome for overcoming chemo-resistance in non-Hodgkin lymphoma. *Chem Biol Drug Des*. 2015; 86: 783-794
13. Mahale NB, Thakkar PD, Mali RG, Walunj DR, Chaudhari SR. "Niosomes: novel sustained release nonionic stable vesicular systems-an overview," *Adv Colloid Interface Sci*. 2012; 183: 46-54.
14. Paolino D, Muzzalupo R, Ricciardi A, Celia C, Picci N, Fresta M. In vitro and in vivo evaluation of Bola-surfactant containing niosomes for transdermal delivery. *Biomed Microdevices*. 2007; 9: 421-33.
15. Raeiszadeh M, Pardakhty A, Sharififar F, Farsinejad A, Mehrabani M, Hosseini-nave H, Mehrabani M. Development, physicochemical characterization, and antimicrobial evaluation of niosomal myrtle essential oil. *Res Pharm Sci*. 2018; 13: 250-261.
16. Sadat SMA, Jahan ST, Haddadi A. Effects of Size and Surface Charge of Polymeric Nanoparticles on in Vitro and in Vivo Applications. *J Biomater Nanobiotechnol*. 2016; 7: 91-108.
17. Shaker DS, Shaker MA, Hanafy MS. Cellular uptake, cytotoxicity and in-vivo evaluation of Tamoxifen citrate loaded niosomes. *Int J Pharm*. 2015; 493: 285-294.
18. Sjöberg J, Halthur C, Kristinsson SY, Landgren O, Nygell UA, Dickman PW, Björkholm M. Progress in Hodgkin lymphoma: a population-based study on patients diagnosed in Sweden from 1973-2009. *Blood*. 2012; 119, 990-996.

19. Taymouri S, Varshosaz J. Effect of different types of surfactants on the physical properties and stability of carvedilol nano-niosomes. *Adv Biomed Res.* 2016; 5: 48.
20. Zawang A, Langer R, Farokhzad O. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu Rev Med.* 2012; 63: 185-198.

