NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.11/43 , 2021

Scan online to view this article

Investigation of nanoniosomal formulation containing doxorubicin effect on ovarian cancer cell line (OVCAR-3 cell line)

Mariya Ghashghaei[1,2], Milad Akhlaghi[3,4], Azim Akbarzadeh Khyavi[5], Bibi Fatemeh Haghirosadat[6*]

1. Department of Biochemistry, Islamic Azad University of Fars, Science and Research Branch, Fars, Iran.
2. Department of Biochemistry, Islamic Azad University Branch Shiraz, Shiraz, Iran.
3. Department of clinical biochemistry, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4. Nano-Biotech Foresight Company Biotechnology Campus, Science & Technology Park of Yazd, Yazd, Iran
5. Department of Pilot Nanobiotechnology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
6. Nanotechnology and Tissue Engineering Research Center, Reproductive Sciences Research Institute, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract

Aim and Background: Cancer is a major cause of mortality in the world. Treatment of Cancer through drug therapy/chemotherapy faces the challenges of drug delivery. Drug delivery systems such as niosomes provided high efficiency and targeted treatment. The aim of this study was to prepare a new formula of niosomal nano system containing doxorubicin as the cancer therapy drug. Changing the tissue distribution of drug leads to drug effect improvement and reducing its cytotoxicity.

Materials and Methods: Doxorubicin encapsulated niosomes were synthesized using thin-film method. A certain amount of Span-60 and Cholesterol dissolved by chloroform in a round bottom balloon. Rotary evaporator was used in order to remove the organic solvent and form the thin-film. The thin-film was hydrated by doxorubicin and PBS solution using rotary evaporator in 10°C higher than span-60 transition phase. Entrapment Efficiency and release profile were investigated using dialysis and spectrophotometry. Size reduction was applied by probe sonicating. Nanoparticles average diameter and zeta potentiol was measured using DLS technique and Zeta sizer. The optimum formula was PEGylated and its cytotoxicity investigated through MTT assay on Ovarian cancer cell line and fibroblast normal cells.

Results: The diameter of optimized and PEGylated niosomal formulation was 172.5 nm and entrapment efficiency of PEGylated doxorubicin system was about 95.83±1.18. release studies result in PBS buffer at 37°C was the sign of PEGylated nanoniosomes efficiency in controlling the drug release, which the release percent of drug after 48 hours was 20.52 and its cytotoxicity was higher than the free drug.

Conclusion: The study demonstrates using of drug delivery carriers such as synthesized nano-niosomes has an effective role in increasing the efficacy and reducing the consumed dosages of drug.

Keywords: Ovarian Cancer, Nanomedicine, Doxorubicin, Iau Science.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

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

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۱ - شماره۴۳ - تابستان ۱۴۰۰
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی اثر فرمولاسیون نانو نیوزومی حاوی داکسوروبیسین بر روی سلول‌های سرطانی تخمدان (رده OVCAR-3)

ماریا قشقایی[۱،۲]، میلاد اخلاقی[۳،۴]، عظیم اکبرزاده خیاوی[۵]، بی‌بی فاطمه حقیرالسادات[۶*]

۱. گروه بیوشیمی، پردیس علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی، فارس، ایران
۲. گروه بیوشیمی، واحد شیراز ، دانشگاه آزاد اسلامی شیراز، ایران
۳. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۴. شرکت ریز فناوران فردانگر، مرکز زیست فناوری، پارک علم و فناوری، یزد، ایران
۵. بخش نانو بیوتکنولوژی، پایلوت، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۶. مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی و مهندسی بافت، پژوهشکده علوم تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

چکیده

سابقه و هدف: سرطان از مهم‌ترین عامل‌های مرگ و میر در جهان است. درمان سرطان به‌واسطه دارو درمانی/شیمی درمانی با چالش دارو رسانی هدفمند مواجه است. نانوسامانه‌های دارورسانی مانند نیوزوم‌ها درمان پربازده و هدفمندی را فراهم ساخته‌اند. هدف از این مطالعه تهیه فرمول جدید نانو سامانه نیوزومی حاوی داروی داکسوروبیسین، به‌عنوان داروی درمان سرطان بوده است، که با تغییر در توزیع بافتی دارو منجر به بهبود اثر دارویی و کاهش سمیت آن شود.

مواد و روش ها: نیوزوم‌ها استفاده از روش فیلم نازک و توسط مقادیر مشخصی از اسپن۶۰ و کلسترول به‌وسیله دستگاه روتاری سنتز شدند. از روش هیدراتاسیون برای بارگیری دارو درون نیوزوم‌ها استفاده گردید. بازده درون‌گیری و پرووفایل رهایش با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری و دیالیز صورت پذیرفت. قطر میانگین نانوذرات و پتانسیل زتا با استفاده از تکنیک DLS و دستگاه زتاسایزر اندازه‌گیری شد. فرمولاسیون بهینه پگیله شده و سمیت آن از طریق آزمون MTT بر روی رده سلولی سرطان تخمدان و سلول‌های طبیعی فیبروبلاستی بررسی گردید.

یافته‌ها: اندازه قطر فرمولاسیون نیوزومی بهینه و پگیله ۱۲۷/۵ نانومتر و راندمان بارگذاری سامانه داکسوروبیسین پگیله شده حدود ۱/۱۸±۹۵/۸۳٪ بود. نتایج مطالعه‌های آزادسازی در بافر PBS در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نشانه کارایی نانونیوزوم‌های پگیله شده در کنترل رهش دارو بود، که درصد آزاد سازی دارو تا ۴۸ ساعت ۲۰/۵۲ و اثر سایتوکسیتی آن بیش‌تر از فرم معمولی دارو بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که استفاده از حامل‌های دارورسانی مانند نانو نیوزوم‌های سنتز شده در افزایش کارایی دارو وکاهش دوز مصرفی آن مؤثر بود.

واژگان کلیدی: سرطان تخمدان، نانو نیوزوم، داکسوروبیسین،Iau Science.

مقدمه

سرطان حاصل تقسیم کنترل نشده سلولی است و در حال حاضر یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر در جهان است (۱). سرطان نوعی بیماری است که در آن سلول‌ها توانایی تقسیم و رشد عادی خود را از دست داده و این موضوع منجر به تسخیر، تخریب و فاسد شدن بافت سالم می‌شود (۲). بدین‌سبب درمان‌های جدید و هدفمند سرطان که

نویسنده مسئول:
مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی و مهندسی بافت، پژوهشکده علوم تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی یزد
پست الکترونیکی: Fhaghirosadat@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۲

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

منجر به اختصاصیت درمان تومور و کاهش سمیت ناشی از جذب سیستمیک ناخواسته عوامل دارویی می‌شوند، مورد بررسی‌های فراوان قرار گرفته است (۳). تخمین زده می‌شود که در سال ۲۰۳۰ حدود ۱۵ میلیون مورد مرگ و میر ناشی از سرطان گزارش خواهد شد (۴). اگر چه انواع مختلف شیمی درمانی کمک مؤثری در درمان سرطان است، ولی بروز مقاومت چندگانه دارویی (MDR[1]) در سلول‌های سرطانی و نیز بروز عوارض جانبی داروهای ضد سرطان از مهم‌ترین محدودیت‌های شیمی درمانی است؛ چرا که یکی از علل مهم شکست درمان‌های ضد سرطان است (۵). سرطان تخمدان به رشد سلول‌های سرطانی که در تخمدان رخ می‌دهد اشاره دارد. بیش‌تر سرطان‌های تخمدان از اپیتلیوم[2] ایجاد می‌شوند. با استناد به آمار جامعه سرطانی آمریکا، سرطان تخمدان هشتمین سرطان رایج در میان زنان ایالات متحده آمریکا و پنجمین عامل رایج مرگ و میر سرطان در زنان سراسر دنیا است. در شیمی درمانی، به‌عنوان یکی از استراتژی‌های سرطان درمانی؛ با استفاده از داروهای شیمیایی و سمی از تقسیم و رشد سلول‌های سرطانی جلوگیری به‌عمل آورده می‌شود (۶). یکی از داروهای متداول شیمی درمانی، داروی داکسوروبیسین است. داکسوروبیسین از خانواده آنتراسایکلین‌ها بوده و عامل شیمی درمانی رایج در درمان تومورهای جامد و بدخیم است که با القاء استرس اکسیداتیو دو رشته DNA را می‌شکند (۷). هم‌چنین با کاهش بیان ژن توپوایزومراز II باعث جلوگیری از پدیده همانند سازی DNA می‌شود. اگرچه مکانسیم اصلی عملکرد داکسوروبیسین تخریب DNA از طریق مهار توپوایزومراز II است، اما اثر القای آپوپتوز نیز تأیید شده است (۸). اما استفاده از این دارو با محدودیت‌های دوز مصرف، القای MDR و عوارض جانبی بسیار نظیر مشکلات قلبی عروقی همراه است. بهره‌گیری از حامل‌های دارویی یا سیستم انتقال دارو از روش‌های جدید دارو درمانی سرطان است. نانوذرات به‌عنوان حامل‌های دارویی، شکل جدیدی از رسانش دارو به سلول‌های سرطانی از طریق ورود به روزنه‌های موجود در مویرگ‌های توده سرطانی را ارائه می‌دهند که این حالت سبب رسانش غلظت بالایی از دارو به‌طور اختصاصی به سلول‌های سرطانی هدف شده و آثار تخریبی بر روی بافت‌های سالم را کاهش می‌دهد. از انواع نانو سامانه‌ها می توان به نانوکره‌ها، نانوکپسول‌ها، امولسیون‌ها، میسل‌ها، لیپوزوم‌ها و نیوزوم‌ها اشاره کرد (۹). نیوزوم‌ها و به‌طور کلی نانوحامل‌های دارویی ویژگی‌های منحصر به فردی دارند که استفاده از آن‌ها را برای اهداف مختلف به‌خصوص در زمینه داروای شیمی درمانی هم‌چون داکسوروبیسین مناسب می‌نماید. نیوزوم‌ها با تغییر توزیع زیستی داروها، غلظت تجمعی دارو را در بافت هدف افزایش داده و از تجمع دارو در بافت‌های غیر هدف و سالم جلوگیری به‌عمل می‌آورند. بدین ترتیب تأثیر درمانی دارو افزایش یافته و از طرف دیگر سمیت و عوارض جانبی ناشی از جذب ناخواسته در بافت‌های غیر هدف کاهش می‌یابد (۱۰). در این مطالعه، داکسوروبیسین درون نانوحامل‌های نیوزومی پگیله محصور شده و مشخصه‌یابی‌های فیزیکوشیمیایی آن اعم از میزان درون‌گیری دارو، پروفایل رهایش دارو از نانوسامانه، سایز، شاخص پراکندگی، مورفولوژی ساختاری، طیف IR و سمیت سلولی بررسی گردید. از جنبه‌های نوآوری این مطالعه می‌توان به سنتز فرمولاسیون‌های متعدد نیوزومی و بهینه‌سازی آن با استفاده پلیمر DSPE-mPEG (2000) و بررسی آن بر روی سلول‌های رده سرطان تخمدان (OVCAR-3) اشاره داشت.

مواد و روش‌ها

مواد

مواد مورد استفاده در این مطالعه شامل اسپن۶۰، پلی-اتیلن گلیکول ((DSPE-mPEG (2000)، کلسترول، حلال‌های کلروفرم، DMSO و ایزوپروپیل از شرکت مرک خریداری شد. داکسوروبیسین هیدروکلراید از شرکت Cell pharma GmbH خریداری گردید. کیسه دیالیز (cut off: ۱۴-۱۲ kDa) و رنگ Dil از شرکت سیگما خریداری شد. مواد مرتبط با کشت سلول نظیر محیط کشت DMEM، FBS، Streptomycin، Penicillin، Trypsin، Amphotericin B، رنگ DAPI و MTT همگی از برند Gibco شرکت ThermoScientific خریداری گردیدند. سلول‌های سرطانی رده OVCAR-3 و سلول سالم فیبروپلاست از انستیتو پاستور خریداری و تهیه گردیدند.

سنتز نانوحامل‌های نیوزومی (MLV)

سنتز نانوحامل‌های نیوزومی طی فرمولاسیون‌های متعدد (F1-F4) با نسبت لیپید/دارو ۱:۳۰ و درصدهای وزن مولی ۹۰:۱۰، ۸۰:۲۰، ۷۰:۳۰ و ۶۰:۴۰ از اسپن ۶۰ و کلسترول به روش فیلم نازک صورت پذیرفت. روش فیلم

[1] Multiple Drug Resistance

[2] لایه بیرونی

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

نازک دارای دو فاز آلی و آبی است. در فاز آلی ابتدا مقادیر وزنی کلسترول و اسپن با استفاده از حلال کلروفرم داخل یک بالن ته‌گرد حل گردیده و بعد از گذشت ۲۰ دقیقه؛ حلال با استفاده از دستگاه روتاری (Heidolph, Heivap)؛ (دما ۵۰ °C، دور ۱۵۰ rpm) و برقراری شرایط خلاء حذف گردید. پس از تبخیر کلروفروم در انتهای بالن فیلم نازک لیپیدی شکل می‌گیرد. به‌منظور حذف کامل کلروفرم، داخل بالن به‌مدت چند ثانیه با گاز نیتروژن هوادهی شده و ۲۴ ساعت در دمای ۴ °C، نگاهداری گردید. افزودن دارو و درون‌گیری آن در فاز آبی و به‌شکل غیرفعال صورت می‌پذیرد. بدین‌منظور؛ فیلم نازک با استفاده از محلول داروی داکسوروبیسین با غلظت ۰/۵ mg/mL محلول در بافر PBS (pH=۷)، توسط دستگاه روتاری (دما ۶۰ °C، دور ۱۵۰ rpm) و مدت زمان ۶۰ دقیقه هیدراته گردید. در این فاز نیوزوم‌های چند لایه (MLV[3]) حاوی داروی داکسوروبیسین شکل گرفته‌اند.

پس از تهیه فرمولاسیون‌های متعدد F1-F4 (جدول ۱) و آنالیزهایی که در ادامه توضیح داده می‌شود؛ فرمولاسیون پگیله با کد F5 به عنوان فرمولاسیون بهینه در این مطالعه انتخاب گردید.

سونیکاسیون: همگن سازی

به‌منظور کاهش اندازه نیوزوم‌ها از تیپ چند لایه (MLV) به تیپ (SUV[4]) به‌مدت ۴۵ دقیقه از سونیکیت پروبی (توان[5] ۶۰٪، ۱۰ ثانیه روشن، ۱۵ ثانیه خاموش) استفاده شد (ChromeTech, UH1200B). به‌منظور انجام سونیکیت؛ پروب داخل به‌میزان ۲ سانتی‌متر داخل محلول نیوزومی حاوی دارو قرار گرفته و برای جلوگیری از بالا رفتن دمای نمونه؛ بشر محتوی محلول نیوزومی در ظرف حاوی یخ قرار گرفت.

جدول ۱- درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده فرمولاسیون‌های نیووزمی

Code	Span 60: Cholesterol: DSPE-mPEG (2000) (% mol)
F1	۹۰:۱۰
F2	۸۰:۲۰
F3	۷۰:۳۰
F4	۶۰:۴۰
F5	۵/۸۵:۹:۵/۵

جداسازی داروی آزاد

فرآیند جداسازی داروی آزاد و انکپسوله نشده در داخل نیوزوم‌ها توسط فرآیند انتشار و با کمک کیسه دیالیز انجام گرفت. ابتدا کیسه دیالیز به‌مدت ۱۰ دقیقه با بافر کیسه دیالیز (۱ mM از EDTA، سدیم بی‌کربنات ۲٪) جوشانیده (دما ۸۰ °C) و پرورده گردید. به‌منظور حذف مواد بافر، کیسه دیالیز به‌مدت ۱۰ دقیقه دیگر در آب مقطر جوشانده شد. سپس محلول نیوزومی به درون کیسه دیالیز منتقل شده و کیسه دیالیز داخل بشر محتوی بافر PBS (pH=۷) (۱۵۰ برابر حجم نمونه) قرار گرفته و با برقراری دمای ۴ °C استیرر گردید. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه نسبت‌به تعویض بافر با بافر تازه اقدام گردید و این تعویض تا زمان ثابت شدن جذب دارو در مایع اطراف کیسه دیالیز ادامه یافت. طی این فرآیند؛ داروی انکپسوله نشده از داخل کیسه دیالیز به PBS اطراف کیسه انتشار یافته و داروی کپسوله شده در داخل نیوزوم‌ها داخل کیسه دیالیز باقی می‌ماند.

بررسی میزان درون‌گیری داکسوروبیسین داخل نیوزوم

به‌منظور بررسی میزان داکسوروبیسین درون‌گیری شده توسط نیوزوم‌ها، از محلول ایزوپروپیل استفاده گردید. بدین‌منظور محلول نیوزومی سنتز شده با نسبت ۱ به ۹ با محلول ایزوپروپیل رقیق گردید. استفاده از ایزوپروپیل سبب هضم و شکستن غشای نیوزومی می‌گردد و بدین سبب داکسوروبیسین از نیوزوم خارج می‌شود. سپس جذب نمونه در طول موج ۴۸۰ nm دستگاه اسپکتروفتومتر (PG instruments, T80+ UV/VIS spectrometer) اندازه‌گیری شده و میزان داکسوروبیسین درون‌گیری شده با استفاده از معادله خط کالیبراسیون داکسوروبیسین در ایزوپروپیل (نمودار ۱) به‌دست آمد. برای به‌دست آوردن بازده درون‌گیری از رابطه ذیل استفاده شد. تمامی رقت‌سازی و خوانش جذب‌ها با سه مرتبه تکرار گردید.

$$\text{بازده درون گیری} = \frac{\text{مقدار داروی محصور شده}}{\text{مقدار داروی اولیه}} \times 100$$

رابطه (۱)

بررسی نحوه رهایش دارویی فرمولاسیون‌های نیوزومی

برای بررسی الگوی آزاد شدن دارو از نانوحامل نیوزومی مقدار ۱ mL از محلول نیوزومی به درون کیسه دیالیز ریخته شده و به داخل یک فالکون محتوی ۱۰ mL از بافر

[3] Multi Lamellar Vesicles
[4] Single unilamellar vesicles
[5] Amplitude

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

PBS (pH=۷) منتقل شد. سپس فالکون داخل حمام با دمای ۳۷ °C به‌منظور سینک رهایش درون‌تن استیرر گردید. نمونه‌گیری از محیط PBS اطراف کیسه دیالیز در زمان‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت قرار گرفت و حجم هر نمونه با همان حجم و دمای یکسان از بافر تازه جایگزین گردید. سپس جذب نمونه‌ها با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج داکسوروبیسین خوانش شده و با استفاده از معادله کالیبراسیون دارو در PBS (نمودار ۲) مقدار رهایش از سامانه به‌ازای هر کدام از زمان‌ها محاسبه گردید.

تعیین سایز، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا (شارژ سطحی) نانو نیوزوم‌ها

محدوده توزیع اندازه ذرات و هم‌چنین پیک اندازه ذرات با استفاده از DLS تعیین می‌شود که بدین‌منظور از دستگاه نانو سایزر (Corp Brookhaven Instruments) استفاده شد. اندازه‌گیری نانو نیوزوم‌ها در یک زاویه ۹۰ درجه و تابش نور لیزر با طول موج ۶۵۷ nm در دمای ۲۵ سانتی‌گراد صورت گرفت. هم‌چنین اندازه‌گیری نمونه‌ها در ۵ مرتبه و هر مرتبه با مدت زمان ۳۰ ثانیه انجام گردید. جهت تعیین اندازه از ۶۰۰μL نمونه با غلظت mg/mL ۰/۵ تا ۰/۱ استفاده شد. تعیین پتانسیل زتا/بار سطحی نانو نیوزوم‌ها در دمای اتاق با استفاده از ۱۵۰۰ μL نمونه با غلظت ۰/۱ mg/mL تعیین گردید.

میکروسکوپ الکترونی نمایه

به‌منظورر بررسی مورفولوژی؛ تصویربرداری توسط میکروسکوپ الکترونی نمایه (EM3200 – KYKY - China) فرمولاسیون بهینه سامانه نانونیوزومی حاوی داکسوروبیسین (F5) با توان ۲۵ kV انجام گرفت. آماده سازی نمونه به‌منظور تصویربرداری؛ یک قطره از محلول نیوزومی F5 به روی لام قرار داده شده و در مجاورت هوا خشک شده و لامل‌گذاری گردید.

آنالیز نیوزوم سنتز شده توسط دستگاه طیف سنجی مادون قرمز FTIR

به‌منظور بررسی هرگونه تراکنش میان دارو و حامل دارویی از طیف‌سنجی مادون قرمز/طیف IR استفاده گردید. پیک‌های به‌دست آمده در طیف IR نشان دهنده گروه‌های عاملی نمونه هستند. بدین‌ترتیب طیف IR سامانه حاوی دارو (F5)؛ با طیف دارو (داکسوروبیسین) و سامانه فاقد دارو (F5-Blank) با دستگاه FTIR (Model 8300, Shimadzu Co. Japan) اندازه‌گیری شد.

بررسی سمیت سلولی (MTT Assay)

سلول‌های سرطان تخمدان رده OVCAR-3 (آدنوکارسینومای تخمدان، مورفولوژی اپیتلیالی و الگوی رشد چسبنده) و سلول سالم فیبروبلاستی (مورفولوژی دوکی شکل، الگوی رشد چسبنده) در محیط کشت DMEM با (۱۰٪) FBS و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین (۱٪ W/V) در انکوباتور (Memmert GmbH Co. KG, Germany) (دمای ۳۷ °C، CO_2 ۵٪ ، و رطوبت ۹۵٪) کشت داده شد.

آزمون MTT که یک آزمون بر پایه رنگ‌سنجی است. اساس این آزمون احیاء کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم (فرمول شیمیائی 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT)) توسط ردوکتازهای میتوکندریایی سلول‌های زنده است. درصد زنده‌مانی سلول‌ها بعد از مجاورت با نیوزوم حاوی داکسوروبیسین با استفاده از آزمون MTT در پلیت ۹۶ خانه و رقت سلولی ۱×۱۰^{۴} به ازای هر چاهک (۱۰۰ μL کشت DMEM حاوی ۱۰٪FBS و ۱٪ آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین) انجام گرفت. بعد از انتقال سلول به چاهک‌ها؛ به‌منظور چسبیدن سلول‌ها ۲۴ ساعت انکوباسیون صورت گرفت. سپس محیط رویی چاهک‌ها حذف شده و محیط کشت جدید با غلظت‌های مندرج در جدول ۲ از داکسوروبیسین به فرم آزاد، سامانه حاوی داکسوروبیسین و سامانه نیوزومی خالی تیمار شدند. بعد از گذشت ۷۲ ساعت؛ ۲۰ μL از محلول MTT با غلظت ۰/۵ mg/mL محلول در PBS (pH=۷) به هر چاهک افزوده شده و انکوباسیون مجدد ۴ ساعت صورت گرفت تا به سلول‌های زنده فرصت متابولیزه کردن MTT داده شود. بعد از گذشت این مدت؛ محلول داخل چاهک‌ها را حذف کرده و مقدار ۱۶۰ μL ماده DMSO به‌منظور حل کردن کریستال‌های فورومازان به هر چاهک افزوده گردید. محلول موجود در هر چاهک به‌خوبی پیپتاژ گردیده و انکوباسیون مجدد به‌مدت ۳۰ دقیقه انجام گرفت. سپس جذب هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (synergy HTX, Bio Tek, USA) در طول موج‌های ۵۷۰ و ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. در انتها درصد زنده‌مانی برای هر چاهک محاسبه گردید.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

جدول ۲- غلظت‌های مورد استفاده از داکس، نیوزوم داکس و نیوزوم بدون دارو در آزمون MTT

ردیف	شرح	مقدار (میکرولیتر)
۱	داکس (غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر)	۲۰
۲	نیوزوم داکس (غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر)	۲۰
۳	نیوزوم بدون دارو	۲۰
۴	کنترل منفی شامل سلول و محیط کشت (تریت نشده)	۲۰

یافته‌ها

تعیین طول موج ماکسیمم داروی داکسوروبیسین با استفاده از طیف جذبی دارو

طیف جذبی داروی داکسوروبیسین در بازه طول موج ۶۰۰-۲۰۰ nm، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر رسم و بر اساس نمودار طول موج ماکسیمم دارو، ۴۸۰ nm تعیین گردید.

نمودار کالیبراسیون داکسوروبیسین هیدروکلراید

نمودار کالیبراسیون دارو در حلال‌های ایزوپروپیل و PBS در تکرارهای سه‌تایی رسم گردید و تکرارپذیری داده‌ها بررسی گردیدند و سپس نمودار نهایی بر اساس میانگین داده‌های تکرارپذیر برای حلال ایزوپروپیل و PBS رسم و معادله خط راست و ضریب رگرسیون دارو تعیین گردید. داده‌های حاصل میزان قابل قبولی از ضریب رگرسیون را گزارش می‌کنند.

تعیین میزان درون‌گیری داروی داکسوروبیسین درون نانوحامل نیوزومی

میزان بازدهی درون‌گیری داروی داکسوروبیسین در تمامی فرمولاسیون‌های سنتزی، با جای‌گذاری در معادله خط درجه یک بدست آمده از نمودار بالا و استفاده از رابطه اندازه‌گیری راندمان بارگذاری (رابطه ۱) محاسبه گردید (جدول ۱). با توجه‌به اهمیت میزان درون‌گیری دارو در یک نانوحامل مطلوب، این پارامتر به‌عنوان ملاک انتخاب فرمولاسیون بهینه مدنظر قرار داده شد. با توجه‌به داده‌های جدول، از میان فرمولاسیون F1 با بالاترین میزان درصد بارگذاری/درون‌گیری دارو به میزان ٪۹۴/۱۶ به‌عنوان فرمولاسیون بهینه جهت پگیلاسیون انتخاب گردید و فرمولاسیون پگیله از منظر میزان درون‌گیری و آزادسازی دارو و هم‌چنین خصوصیت‌های فیزیکوشیمیایی مورد تحلیل و بررسی قرار گرفت و در ادامه سمیت سلولی نانوحامل پگیله نیز از لحاظ کمی و کیفی ارزیابی گردید.

بررسی سایز، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی نانوحامل‌های نیوزومی حاوی داکسوروبیسین

قطر هیدرودینامیک نانونیوزوم‌ها بهینه تولیدی حاوی داکسوروبیسین با سونیکیت پروبی (توان ٪۶۰) کاهش اندازه داده شد. سپس با استفاده از دستگاه زتاسایزر قطر هیدرودینامیک/سایز، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا تعیین گردید. نتایج در جدول شماره ۳ آورده شده است.

جدول ۳- مقایسه نتایج بررسی چهار فرمولاسیون مختلف نانونیوزوم داکسوروبیسین

کد فرمول	درصد بارگذاری دارو	شاخص پراکندگی	پتانسیل زتا (mv)	سایز (nm)
F1	۹۴/۱۷ ± ۵/۸۹	۰/۳۴۵	-۳۶/۳۵	۲۴۳/۱
F2	۶۲/۰۸ ± ۵/۳۰	۰/۳۲۳	-۳۰/۶۹	۲۴۵/۴
F3	۷۶/۸۸ ± ۵/۰۱	۰/۲۹۷	-۳۱/۷۳	۲۶۴/۸
F4	۲۴/۱۷ ± ۸/۸۴	۰/۳۳۸	-۳۸/۱۳	۲۸۷/۲

فرمولاسیون بهینه؛ F5

با توجه‌به نتایج به‌دست آمده در خصوص بازده درون‌گیری، سایز و پتانسیل زتا(جدول شماره۴)؛ فرمولاسیون F1 به‌منظور بهینه‌سازی و پگیلاسیون (٪۵) با نام فرمول بهینه F5 انتخاب گردید. سپس بررسی‌های درصد درون‌گیری، پروفایل رهایش، سایز، زتا، مورفولوژی، FTIR و سمیت سلولی بر اساس این فرمول نهایی صورت پذیرفت.

بررسی اثر پگیلاسیون ((DSPE-mPEG (2000) بر میزان راندمان بارگذاری

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

فرمولاسیون بهینه با پلی اتیلن گلایکول (PEG) به میزان ۵٪، اصلاح سطحی شده و راندمان بارگذاری اندازه-گیری و میزان ۹۶/۸۷٪ گزارش گردید. با توجه‌به نتایج گزارش شده، پگیلاسیون توانسته است بازده انکپسولاسیون را به‌میزان ۲/۷۱٪ نسبت‌به فرمولاسیون فاقد پلی‌مر پگ، افزایش دهد. میانگین قطر نانوحامل F5 حاوی داکسوروبیسین ۲۷/۵ nm، پتانسیل زتا mV ۳۲/۵۴- ، شاخص پراکندگی ۰/۲۴۷ گزارش گردید. نمودارهای ۳ و ۴ نشان دهنده سایز و شارژ سطحی فرمولاسیون F5 است.

جدول ۴- فرمولاسیون F5 و ویژگی‌های آن

کد فرمول	درصد بارگذاری دارو	شاخص پراکندگی	پتانسیل زتا (mv)	سایز (nm)
F5	۹۵/۸۳ ± ۱/۱۸	۰/۲۴۷	-۳۲/۵۴	۱۲۷/۵

تصویربرداری SEM از نانو نیوزوم پگیله حاوی دارو

در تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونیکی (SEM) (با توان ۲۵ کیلوولت) نانو نیوزوم تولیدی حامل دارو دارای مورفولوژی کروی، منومر و ساختاری یکنواخت بودند (تصویر ۱)

تعیین میزان رهاسازی داکسوروبیسین از نانو نیوزوم پگیله شده

نتایج حاصل از چهار بار تکرار، بررسی میزان آزادسازی داکسوروبیسین از نانونیوزوم‌های پگیله شده محاسبه شد که در شکل ۴-۲۶ نشان داده ش ده است. مقدار داروی داکسوروبیسین آزاد شده از فرمولاسیون داکسوروبیسین نانونیوزومه در بافر PBS طی بازه‌های زمانی ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت با استفاده از منحنی استاندارد داکسوروبیسین در PBS محاسبه گردید. حداکثر مقدار داروی آزاد شده از نیوزوم‌های پگیله (F5) شده در مدت زمان ۴۸ ساعت؛ ۲۰/۵۲ درصد محاسبه گردید. الگوی رهایش دارو مطابق نمودار ۵ است.

نمودار طیف سنجی FTIR؛ آنالیز نانونیوزوم سنتز شده توسط دستگاه طیف سنجی مادون قرمز

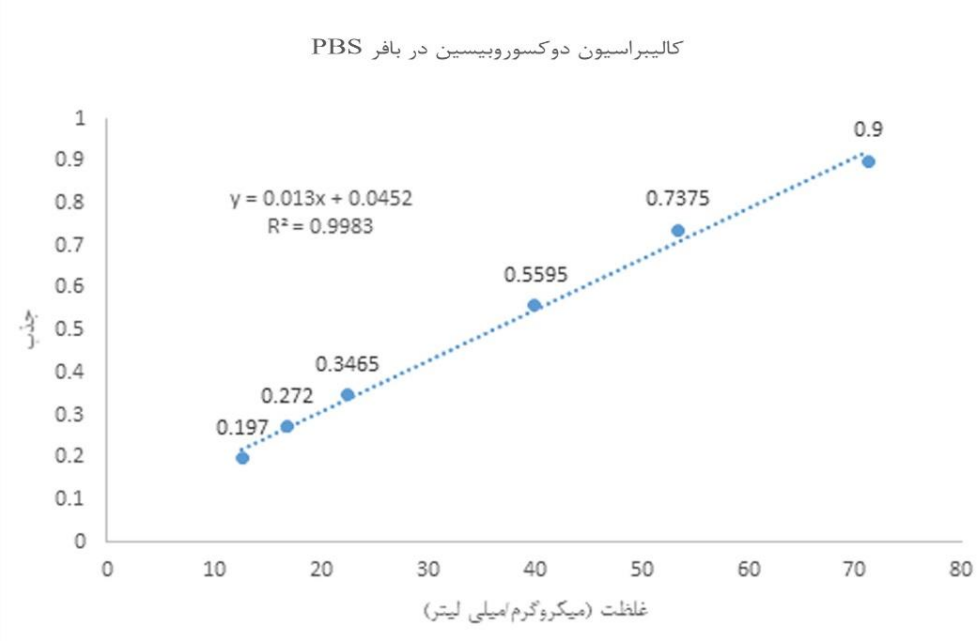
در نمودار۶ و ۷، گراف طیف سنجی FTIR نمونه نیوزومی ساخته شده ارائه گردیده است. در طیف IR گروه‌های عاملی ترکیب‌ها و مواد سازنده؛ دارو؛ فرمولاسیون نهایی نانوحامل نیوزومی بررسی گردید. در نمودارهای ذیل طیف داکسوروبیسین (نمودار ۶) و سامانه نیوزومی F5 حاوی داروی داکسوروبیسین (نمودار ۷) نشان داده شده است.

یک شاخص $۳۴۱۰\ cm^{-1}$ نشان‌دهنده گروه عاملی الکل با پیوند کششی O-H است. پیک $۲۹۲۴\ cm^{-1}$ و ۲۸۴۸ معرف گروه عاملی آلکان و پیک ۱۷۳۷ گروه عاملی استر را معرفی می‌کند. هم‌چنین پیک ۱۶۳۹ گروه عاملی آمین (NH2) را نشان می‌دهد. پیک شاخص ۱۴۶۹ نیز گروه عاملی آلکان (RCH2CH3) را نشان می‌دهد. پیک ۱۲۳۴ گروه عاملی فسفونات با پیوند کششی (P=O) را معرفی می‌کند و گروه عاملی ۱۰۲۶ گروه عاملی استر فسفات با پیوند شیمیایی (P-OR) را نشان می‌دهد. بررسی‌های FTIR نشان از نبود برهم‌کنش میان دارو و نانوحامل بوده است به‌گونه‌ای که خواص دارویی داکسوروبیسین بعد از انکپسوله شدن درون نانوحامل تغییر نیافته است.

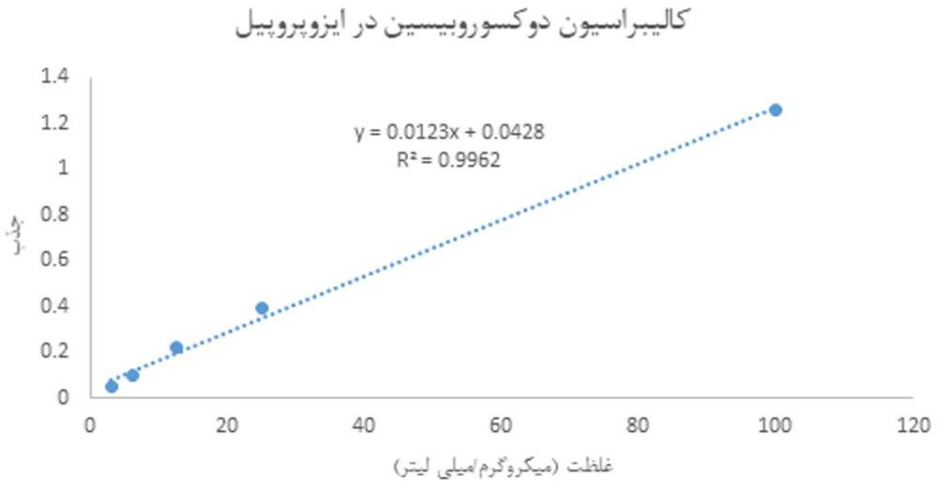
بررسی سمیت سلولی

بررسی میزان درصد زنده‌مانی سلولی با استفاده از آزمون MTT نشان داد که سامانه نیوزومی حاوی داکسوروبیسین رشد سلول‌های سرطانی تخمدان را به-صورت وابسته‌به دوز و زمان کاهش می‌دهد (نمودار۸). هم‌چنین مقایسه دوزهای یکسان در سلول‌های رده سرطان تخمدان و سالم فیبروبلاستی نشان از تأثیر بیش‌تر سامانه نیوزومی حاوی دارو نسبت‌به دارو در فرم آزاد بر سلول‌های سرطانی دارد. علاوه‌بر آن؛ مقایسه سامانه نیوزومی فاقد دارو/خالی بر سلول‌های سالم و سرطانی با گروه کنترل این سلول‌ها؛ نشان از سمیت بسیار ناچیز سامانه نیوزومی فاقد دارو دارد. مقایسه اثرگذاری داروی داکسوروبیسین در فرم آزاد بر روی دو رده سلولی سالم و سرطان تخمدان نشان از تفاوت چندانی در القای سمیت وجود ندارد؛ در حالی‌که در مقایسه فرم آزاد و نیوزومی مشاهده می‌شود که نه تنها فرم نیوزومی دارای اثرگذاری به‌تقریب برابری با داکسوروبیسین آزاد بوده است؛ بلکه توانسته است سمیت بیش‌تری را در سلول‌های سرطانی نسبت‌به سلول سالم القا کند. این امر با عوامل نانومقیاس بودن سامانه، دمای بالاتر و pH اسیدی سلول‌های سرطانی در مقایسه با سالم توجیه‌پذیر است. چرا که غشای نیوزومی در چنین محیطی توانسته است با ارائه نرخ رهایش بالاتری از داروی انکپسوله شده؛ سمیت بیش‌تری را القا کند.

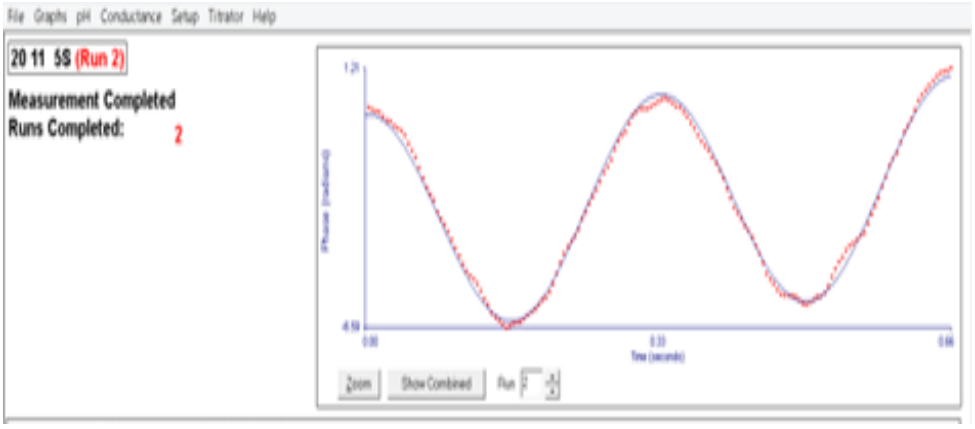
Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021



نمودار ۱- کالیبراسیون داکسوروبیسین در بافر PBS

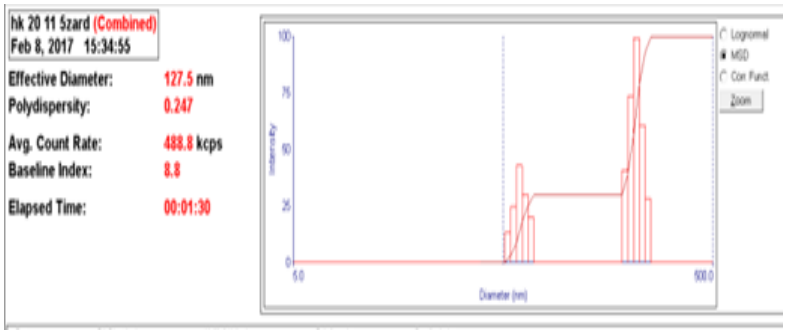


نمودار ۲- کالیبراسیون داکسوروبیسین در ایزوپروپیل

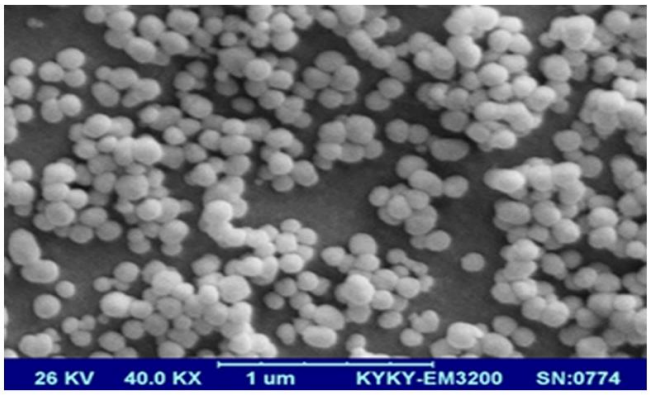


نمودار ۳- نمودار و نتایج پتانسیل زتا (شارژ سطحی) فرمولاسیون F5.

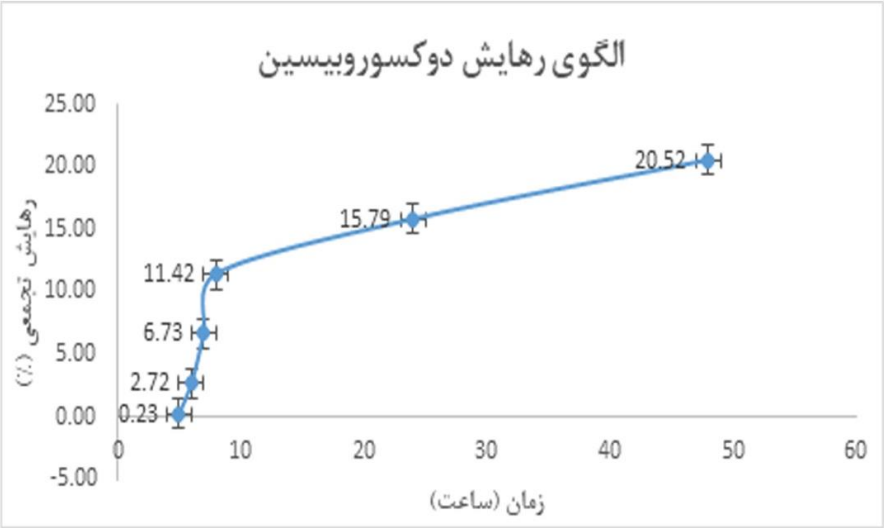
Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021



نمودار ۴- نمودار و نتایج حاصل از اندازه گیری سایز فرمولاسیون F5 توسط دستگاه زتاسایزر.

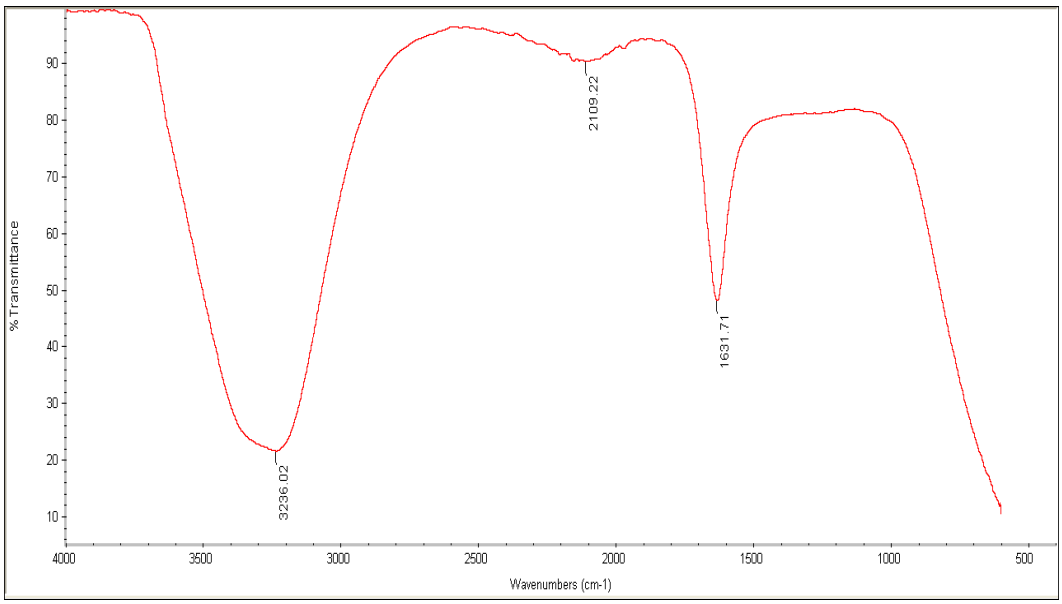


شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی نمایه (SEM) حاصل از تصویربرداری نمونه F5

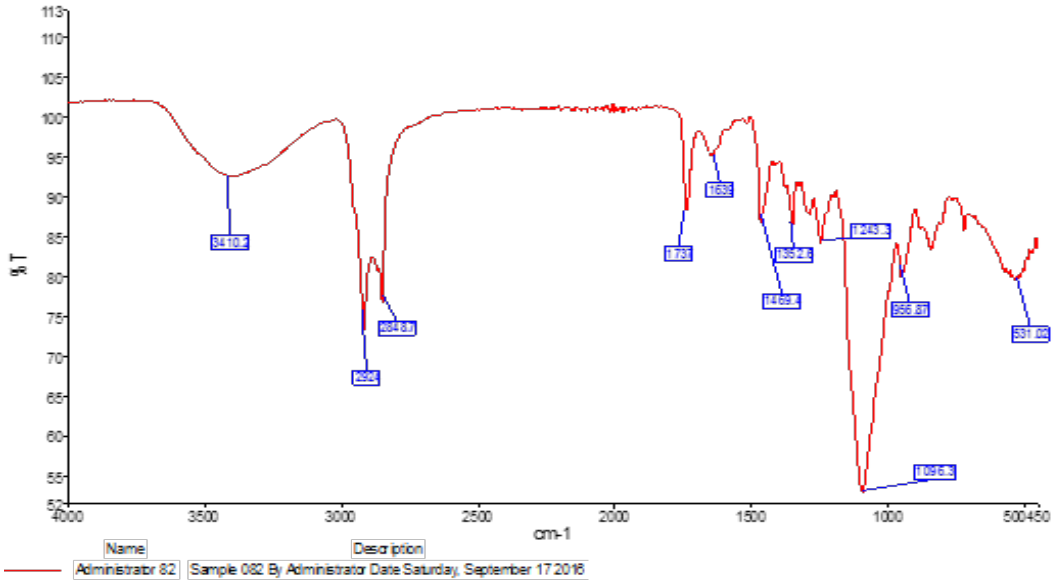


نمودار ۵- الگوی رهایش داکسوروبیسین از فرمولاسیون نیوزومی F5 در محیط بافری PBS طی دمای ۳۷ °C و pH ۷/۴

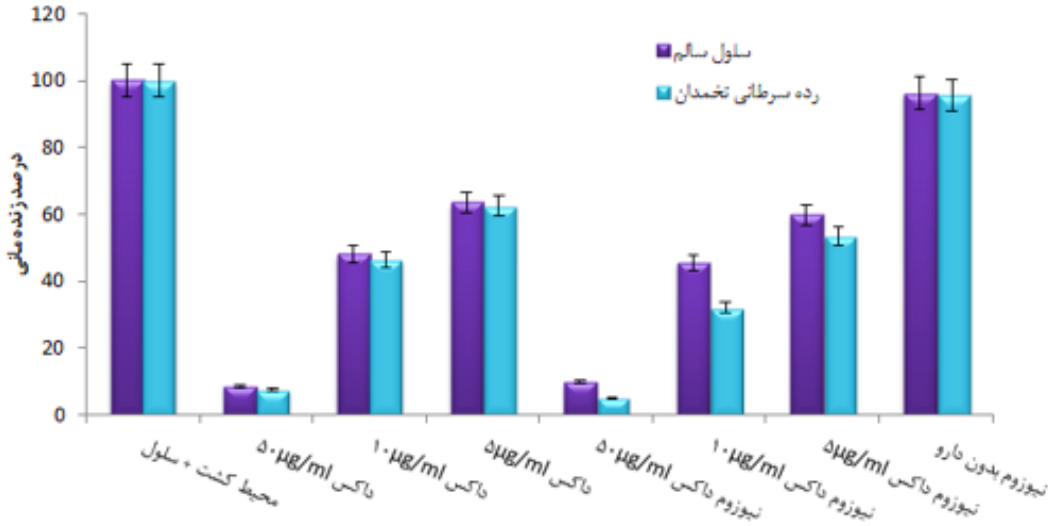
Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021



نمودار ۶- طیف IR داروی داکسوروبیسین هیدروکلراید



نمودار ۷- طیف FTIR سامانه نیوزومی F5 حاوی داکسوروبیسین



نمودار ۸- نتایج آزمون MTT حاصل از تیمار ۳ غلظت ۵۰، ۱۰ و ۵ میکروگرم/میلی‌لیتر داکسوروبیسین در فرم آزاد و در فرم نانوحامل نیوزومی بر روی دو رده سلولی سالم و رده سلولی سرطان تخمدان.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

بحث

سرطان اساسی‌ترین مشکل جوامع بشری است. یک راه متداول درمان، شیمی درمانی است. اگرچه انواع مختلف شیمی درمانی کمک مؤثری در درمان سرطان است، ولی بروز مقاومت چندگانه دارویی (MDR) در سلول‌های سرطانی و نیز بروز عوارض جانبی داروهای ضد سرطان از مهم‌ترین محدودیت‌های شیمی درمانی است (۵). یکی از اصلی‌ترین راه‌ها برای مواجهه با این چالش‌ها، درمان با استفاده از سیستم تحویل دارو است که جذب دارو توسط سلول‌های نرمال را به کاهش داده و نفوذ، هم‌چنین بقای دارو در سلول سرطانی را بیش‌تر می‌کند (۱۱). نیوزوم‌ها حامل‌هایی هستند که از خود تجمعی سورفکتانت‌های غیریونی در محیط آبی شکل می‌گیرند و ساختار دو لایه محصوری را ایجاد می‌کنند(۱۲). آن‌ها باعث هدایت اختصاصی تر دارو به بافت هدف نظیر تومورها و بافت‌های التهابی شده، در نتیجه غلظت تجمعی و تأثیر درمانی دارو افزایش یافته و کاهش عوارض جانبی (سمیت دارو) مشهود است. نیوزوم‌ها از حامل‌های مناسب در دارو رسانی هستند که توانایی انباشته کردن طیف وسیعی از داروهای آب‌دوست، آب‌گریز و دوگانه دوست را دارند. نیوزوم‌ها تهیه و ذخیره‌سازی آسان‌تری داشته، هم‌چنین زیست تخریب‌پذیر، زیست‌سازگار و غیر ایمونوژن هستند. هم‌چنین؛ آزادسازی کنترل شده و افزایش و پایداری دارو را نیز سبب می‌شوند. هم‌چنین قابلیت نفوذ به پوست را داشته و امکان زیست خوراکی داروها را فراهم می‌کنند (۱۳). داروی داکسوروبیسین هیدروکلراید یک عامل مؤثر شیمی‌درمانی در درمان سرطان است داکسوروبیسین ترکیبی چهار حلقه‌ایی از خانواده آنتی‌بیوتیک‌های آنتراسیکلین با طیف وسیعی از عملکرد آنتی‌نئوبلاستیک و ضدسرطانی است. ترکیب‌های این دسته دارویی از باکتری‌های استرپتومایسز[6] استخراج می‌شوند (۱۴).

در مطالعه حاضر؛ انکپسولاسیون داروی داکسوروبیسین طی طراحی و سنتز ۴ فرمولاسیون نیوزومی صورت پذیرفت. فرمولاسیون دارای بیش‌ترین درصد کلسترول (F4) از کم‌ترین میزان بازده درون‌گیری (۸/۸۴ ± ۲۴/۱۷٪) و بزرگترین قطر (۲۸۷/۲ nm) برخوردار بوده است؛ اما به‌طور قطع نمی‌توان این موضوع را به‌عنوان رابطه‌ای مستقیم با کلسترول عنوان کرد. اما می‌توان این گونه بیان نمود که افزایش و کاهش کلسترول می‌تواند موجب افزایش یا کاهش بازده درون‌گیری و قطر هیدرودینامیک سامانه گردد؛ اما این امر به‌صورت یک حقیقت ثابت و پیوسته نیست.

پتانسیل زتا تمامی فرمولاسیون F1-F4 همگی منفی بوده که نشان از سمیت پایین و حلالیت بالای این سامانه‌ها دارد. هم‌چنین قدر مطلق تمامی پتانسیل‌های زتا بیش‌تر از ۳۰ mV است. این موضوع حاکی از پایداری بالا و عدم وقوع aggregation ها با گذر زمان است؛ چرا که این مقدار از شارژ هم‌نام سبب ایجاد فاصله فضایی مناسب حامل‌های دارویی از یکدیگر شده و مانع از چسبیدن و تجمع آن‌ها می‌گردد.

بهینه‌سازی فرمول نهایی F5 با استفاده از ۵٪ پلیمر پلی-اتیلن گلیکول صورت گرفت؛ نتایج حاصل از این بهینه-سازی شامل افزایش درون‌گیری دارو درون سامانه از ۹۴/۱۷٪ به ۹۵/۸۳٪، کاهش شاخص پراکندگی از ۰/۳۴۵ به ۰/۲۴۷ و کاهش قطر میانگین هیدرودینامیک از ۲۴۳/۱ به ۱۲۷/۵ نانومتر بوده است. افزایش درون‌گیری با افزایش فضای آبی به‌دلیل استفاده از پوشش پگ توجیه-پذیر است؛ لکن این افزایش با کاهش فاصله فضای مایی و به‌دنبال آن کوچک‌تر شدن قطر هیدرودینامیک همراه بوده است.

پگیله نمودن نانوحامل سبب می‌شود تا نیمه‌عمر گردش خون نانوذرات تا چند برابر افزایش یابد. علاوه‌بر آن؛ این پلیمر از زیست‌سازگار بسیار خوبی نیز برخوردار است. نتایج حاصل از تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی مورفولوژی کروی نانوذرات و توزیع یکنواخت آن‌ها را تأیید می‌کند.

نتایج بدست آمده از طیف IR نانوسامانه نشان از عدم وجود کنش‌های شیمیایی منجر به تشکیل پیوند و گروه عاملی جدید میان دارو و حامل بوده است.

بررسی نتایج حاصل از آزمون MTT بر روی رده‌های سلولی سالم و سرطان تخمدان همگی حاکی از اثر بالای این نانوسامانه در رده سلولی سرطانی است؛ به‌طوری‌که این سلول‌ها را در مقایسه با سلول‌های سالم بیش‌تر تحت تأثیر قرار داده است. فرم انکپسوله شده دارو در هر دو رده، مرگ سلولی بیش‌تری را القاء کرده است. فرم نیوزومی نیز در عین ارائه رهایش آهسته و کنترل شده دارو؛ دارای اثرهایی برابر با داروی آزاد در درمان تومور بوده است. بنابراین می‌توان گفت در فرم نیوزومی می‌توان

[6] Streptomyces

با انکپسوله نمودن دارو ضمن به‌کارگیری دوز تجمعی کم-تر و با رهایشی پیوسته؛ به‌نتیجه دلخواه دست یافت و در نتیجه کارایی و به‌دنبال آن شاخص درمانی را افزایش داد.

استفاده از نیوزوم‌ها به‌عنوان سیستم‌هایی برای رهایش دارو در محیط‌های بیولوژیکی از دهه ۱۹۸۰ تاکنون ادامه داشته و روز به‌روز بیش‌تر رواج یافته است. رگرسون و همکارانش (۱۹۹۸) موفق به ساخت نانوکپسول‌های نیوزومی شارژ دار حاوی داروی ضدسرطانی شدند. یوچکبو (۱۹۹۶) موفق به نشان‌دار کردن نانوذرات حاوی داروی ضدسرطانی با استفاده از پلی (اکسی اتیلن) شد. پلی (اکسی اتیلن) میزان به دام افتادن نیوزوم ها را توسط سیستم طحال و کبد به‌میزان چشم‌گیری کاهش داد (۱۵).

در طی چند دهه اخیر نیوزوم ها به‌عنوان حامل‌های دارویی مفید وارد عرصه تحقیق شده‌اند و در برخی موارد ادعا شده که این نوع حامل‌ها می‌تواند جایگزین مناسبی برای حامل‌های لیپوزومی باشد (۱۶).

Kubo و همکاران با استفاده از روش تبخیر فاز معکوس، لیپوزوم‌های مغناطیسی حاوی داکسوروبیسین را آماده سازی کردند. آن‌ها اثر این نانوذرات را بر روی استئوسارکوما بررسی کردند. این نانوذرات به‌وسیله مسیر مستقل گلیکوپروتئین- ۸ تجمع دارو در سلول‌های تومور را افزایش می‌دهند. نتایج در مقایسه با داروی آزاد نشان-دهنده افزایش آپوپتوز در سلول‌های توموری استخوان بوده است (۱۷).

Susa و همکاران به‌منظور غلبه‌بر مقاومت دارویی نسبت به بارگذاری داکسوروبیسین در سیستم نانوذرات پلیمری بر پایه لیپید اصلاح شده دکستران اقدام کردند (۱۸).

Srinivas و همکاران مطالعه‌های فرمول نیوزومی را گسترش دادند. جهت بهتر کردن امکان دسترسی در مطالعه‌های ارزیابی خود، اثرهای تغییر ترکیب سورفکتانت‌های غیریونی و کلسترول درظرفیت کپسوله شدن، اندازه ذرات و رها سازی دارو را مورد مطالعه قرار دادند (۱۹).

Bragagni و همکاران در سال ۲۰۱۲ نسبت‌به ساخت، توسعه و تعیین خصوصیت فرمولاسیون نیوزومی داکسوروبیسین به‌منظور دستیابی به دارورسانی بالقوه مغزی اقدام کردند. فرمولاسیون نهایی و منتخب آن‌ها با نتایج مثبتی هم‌چون قادر بودن به افزایش پایداری و بهبود تحویل‌دهی داکسوروبیسین به مغز همراه بوده است (۲۰). Tavano و همکاران در سال ۲۰۱۳ با استفاده از Tween-60 و Pluronic-L64 نسبت‌به طراحی و ساخت داکسوروبیسین انکپسوله شده در سامانه نیوزوم مغناطیسی به‌منظور دارورسانی هدفمند اقدام کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که افزودن ferrofluid مغناطیسی، مورفولوژی و ساختار نیوزوم‌ها را تغییر نداده و فرمولاسیون نهایی به‌مدت طولانی پایدار بوده و رهایش کنترل شده‌ای را از خود نشان داده است (۲۱).

Askari و همکاران در سال ۲۰۱۹ با انکپسوله کردن عصاره پوسته انار بر در نانو نیوزوم‌ها و بررسی تأثیر آن بر سلول‌های سرطان پستان نشان کردن نیوزمه کردن عصاره سبب بهبود عملکرد درمانی آن بر روی سلول‌های سرطانی می‌گردد (۲۲).

Karimi-Moghddam و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۹ به تأثیر دادن نانو نیوزوم‌های حاوی داروی سیلیبینین بر روی سلول‌های سرطان سینه تأیید کردند که نانونیوزیم‌ها تأثیر بیش‌تری نسبت‌به فرم آزاد دارو بر روی سلول‌های سرطان سینه دارند که نتایج کار آن‌ها مطابق نتایج کار ما بود (۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از اندازه‌گیری قطر نیوزوم‌ها با استفاده از دستگاه زتا سایزر اندازه ذرات در ابعاد نانو را تأیید نمود. تمام نانو حامل‌های نیوزومی سنتز شده در محدوده مناسبی از اندازه (کمابیش ۱۲۷/۵ نانومتر) قرار دارند. بررسی میزان بارگذاری دارو نشان می‌دهد که مقدار قابل توجهی از دارو در داخل وزیکول‌های نیوزومی انکپسوله گردیده است. این موضوع می‌تواند تا حد زیادی مرتبط به‌نسبت‌های کنترل شده اسپن، کلسترول، دارو و هم-چنین متد مورد استفاده در سنتز است. بررسی الگوی رهایش داروی نانونیوزومه شده نشان دهنده این است که رهاسازی دارو به‌نسبت آهسته صورت می‌گیرد. استفاده از نیوزوم به‌عنوان عامل دارورسانی نقشی مؤثر در آهسته کردن رهایش دارو و کاهش در دسترس‌پذیری سریع بافتی آن دارد.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

نیوزوم‌های فاقد دارو (کنترل) به‌تنهایی اثری بر سلول-های سرطانی تخمدان نداشتند و تأثیر فرمولاسیون نیوزومه شده بسیار بیش‌تر از داروی خالص در فرم آزاد بوده است. تمام این نتایج متأثر از نقش حامل‌های دارو رسانی (نیوزوم) در انتقال بهتر دارو و بهبود عملکرد آن است. فرمولاسیون نیوزومی داکسوروبیسین پتانسیل این مهم را دارد تا با کاهش دوز مصرفی سبب افزایش شاخص درمانی شود. با کاهش دوز مصرفی دارو، هزینه درمانی نیز کاهش یافته و عوارض جانبی ناشی از جذب ناخواسته سیستمیک دارو و القای سمیت در تمامی بافت‌ها کاهش می‌یابد.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

منابع

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

2. Qiu L, Hu X, Jing Q, Zeng X, Chan K-M, Han J. Mechanism of cancer: Oncohistones in action. J. Genetics and Genomics. 2018;45(5):227-36.

3. Cortez AJ, Tudrej P, Kujawa KA, Lisowska KM. Advances in ovarian cancer therapy. Cancer chemotherapy and pharmacology. 2018;81(1):17-38.

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

5. Pokhriyal R, Hariprasad R, Kumar L, Hariprasad G. Chemotherapy resistance in advanced ovarian cancer patients. Biomarkers in cancer. 2019;11:1179299X19860815.

6. Armbruster S, Coleman RL, Rauh-Hain JA. Management and treatment of recurrent epithelial ovarian cancer. Hematology/Oncology Clinics. 2018;32(6):965-82.

7. Tap WD, Wagner AJ, Schöffski P, Martin-Broto J, Krarup-Hansen A, Ganjoo KN, et al. Effect of doxorubicin plus olaratumab vs doxorubicin plus placebo on survival in patients with advanced soft tissue sarcomas: the ANNOUNCE randomized clinical trial. Jama. 2020;323(13):1266-76.

8. Baxter Holland M, Dass CR. Doxorubicin, mesenchymal stem cell toxicity and antitumour activity: implications for clinical use. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2018;70(3):7-320.

9. Gorjian H, Amiri ZR, Milani JM, Khaligh NG. Preparation and characterization of the encapsulated myrtle extract nanoliposome and nanoniosome without using cholesterol and toxic organic solvents: A comparative study. Food Chemistry. 2021;3:42:128342.

10. Gharbavi M, Amani J, Kheiri-Manjili H, Danafar H, Sharafi A. Niosome: a promising nanocarrier for natural drug delivery through blood-brain barrier. Advances in pharmacological sciences. 2018;2018.

11. Peng H, Ji W, Zhao R, Yang J, Lu Z, Li Y, et al. Exosome: a significant nano-scale drug delivery carrier. Journal of Materials Chemistry B. 2020;8(34):7591-608.

12. Barani M, Mirzaei M, Torkzadeh-Mahani M, Lohrasbi-Nejad A, Nematollahi MH. A new formulation of hydrophobin-coated niosome as a drug carrier to cancer cells. Materials Science and Engineering: C. 2020;113:110975.

13. Gharbavi M, Johari B, Mousazadeh N, Rahimi B, Leilan MP, Eslami SS, et al. Hybrid of niosomes and bio-synthesized selenium nanoparticles as a novel approach in drug delivery for cancer treatment. Molecular Biology Reports. 2020;47(9):6517-29.

14. Zhao N, Woodle MC, Mixson AJ. Advances in delivery systems for doxorubicin. Journal of nanomedicine & nanotechnology. 2018;9(5).

15. Nakamura H, Komatsu H, Yoshio M. Suppression of electrochemical decomposition of propylene carbonate at a graphite anode in lithium-ion cells. Journal of power sources. 1996;62(2):219-22.

16. Bartelds R, Nematollahi MH, Pols T, Stuart MC, Pardakhty A, Asadikaram G, et al. Niosomes, an alternative for liposomal delivery. PLoS One. 2018;13(4):e0194179.

17. Kubo T, Sugita T, Shimose S, Nitta Y, Ikuta Y, Murakami T. Targeted delivery of anticancer drugs with intravenously administered magnetic liposomes in osteosarcoma-bearing hamsters. International journal of oncology. 2000;17(2):309-24.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021

18. Susa M, Iyer AK, Ryu K, Hornicek FJ, Mankin H, Amiji MM, et al. Doxorubicin loaded polymeric nanoparticulate delivery system to overcome drug resistance in osteosarcoma. BMC cancer. 2009;9(1):1-12.

19. Srinivas S, Hafsa Mohammedi AKY. DESIGNING AND EVALUATION OF ACECLOFENAC NIOSOMES.

20. Bragagni M, Mennini N, Ghelardini C, Mura P. Development and characterization of niosomal formulations of doxorubicin aimed at brain targeting. Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences. 2012;15(1):184-96.

21. Tavano L, Aiello R, Ioele G, Picci N, Muzzalupo R. Niosomes from glucuronic acid-based surfactant as new carriers for cancer therapy: preparation, characterization and biological properties. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2014;118:7-13.

22. Askari M, Nikoonahad Lotfabadi N. Evaluation of niosomal nano-carriers capabilities on toxicity preservation and delivery of pomegranate peel extract in cell culture conditions (MCF-7 cell line of breast cancer). Daneshvar Medicine: Basic and Clinical Research Journal. 2020;26(5):9-20.

23. Karimi-Moghddam A, Nikounahad-Lotfabadi N, Haghiralsadat BF, Majdizadeh M. Investigating the effect of lipid nanoparticles containing silibinin anti-cancer drug on the growth of breast cancer MCF-7 cell line. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2019;6(4):1-12.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 23:58 +0330 on Thursday December 2nd 2021