

سنتز و مشخصه‌یابی فیزیوشیمیایی نانوحامل‌های هیبرید لیپونیوزومی به‌عنوان حامل‌هایی برای داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین هیدروکلراید

الهام ساسانی^۱، هاشم شاهی‌المیر^۲، فاطمه دانشمند^۳، محمد مجدی‌زاده^۴، بی‌بی‌فاطمه حقیرالسادات^{۵*}

۱. کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور مرکز تفت، یزد، ایران
۲. کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، گروه زیست‌شناسی، مؤسسه آموزش عالی نور دانش، میمه، اصفهان، ایران
۳. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران
۴. کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، شرکت ریز زیست فناوریان فردانگر، مرکز زیست فناوری، پارک علم و فناوری، یزد، ایران
۵. دکتری نانوبیوتکنولوژی، مرکز نانوتکنولوژی و مهندسی بافت، پژوهشکده علوم تولیدمثل یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۶. استادیار گروه علوم و فنون نوین پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۱۷

زمینه و هدف: نانوحامل‌های لیپیدی با رهایش آهسته و تحویل نیمه‌هدفمند دارو می‌توانند برخی از چالش‌های رسانش دارو را به سلول‌های سرطانی کاهش دهند. هدف از این مطالعه تهیه و ارزیابی فیزیوشیمیایی فرمولاسیون‌های مختلفی از سامانه لیپونیوزومی حاوی دوکسوروبیسین به‌منظور دستیابی به فرمولاسیونی هدفمند جهت مبارزه بهتر با سلول‌های سرطانی است.

مواد و روش‌ها: نانوحامل‌ها با استفاده از نسبت‌های مولی مختلف از پالمیتویل فسفاتیدیل کولین، کلسترول و سوربیتان مونو استغارات سنتز و از میان ۵ فرمولاسیون سنتزی، ۳ فرمولاسیون با استناد به بازده درون‌گیری انتخاب شدند. سپس به‌منظور انتخاب فرمول نهایی، پروفایل‌های رهایش با استفاده از روش‌های دیالیز و اسپکتروفوتومتری تعیین و فرمولاسیون نهایی به‌منظور بررسی اثر پلی اتیلن گلیکول بر بازده درون‌گیری و الگوی رهایش در محیط شبه سلول‌های سالم و سرطانی پگیله گردید. شاخصه‌های فیزیوشیمیایی از قبیل اندازه، بار سطحی، شاخص پراکندگی، طیف IR و مورفولوژی شناسایی شدند.

یافته‌ها: فرمولاسیون نهایی پگیله‌شده حاوی دوکسوروبیسین دارای اندازه ۱۰۲/۹ نانومتر، بازده احتباس ۳/۲۱ ± ۹۴/۱۷ درصد، پتانسیل زتا ۶/۶۷- میلی‌ولت و شاخص پراکندگی ۰/۱۲۸ است. حداکثر رهایش دارو از نانوسامانه در شرایط سلول‌های سالم و سرطانی، طی ۴۸ ساعت به ترتیب، ۲۴/۴۳ و ۲۶/۸۱ درصد بوده است. بررسی طیف IR و تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد دارو و نانوسامانه برهم‌کنش شیمیایی نداشته و ذرات شکل کروی دارند.

نتیجه‌گیری: سامانه لیپونیوزومی پگیله‌شده ضمن برخورداری از ویژگی‌های فیزیوشیمیایی مناسب، تغییری در ماهیت شیمیایی دارو ایجاد نکرده و می‌تواند حاملی مناسب و نیمه‌هدفمند برای دوکسوروبیسین باشد.

کلیدواژه‌ها:

لیپونیوزوم، دوکسوروبیسین، نانوحامل دارویی، عامل ضدسرطان.

* نویسنده مسئول: بی‌بی‌فاطمه حقیرالسادات

نشانی: یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم و فنون نوین پزشکی

تلفن: ۰۹۱۳۲۵۰۷۱۵۸

رایانه: Fhaghirosadat@gmail.com

شناسه ORCID: 0000-0002-8655-2118

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-0624-0748

مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۷، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹، ص ۳۵-۴۶

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

۱. مقدمه

سرطان گروهی از بیماری‌ها را شامل می‌شود که مشخصه آن‌ها رشد سلولی تنظیم‌نشده و تهاجم و انتشار سلول‌ها از جایگاه اصلی یا مکان اولیه به نقاط دیگر بدن است. [۱] این بیماری که یکی از علل اصلی مرگ و ناتوانی در سرتاسر جهان است، هر ساله بیش از ۱۴,۰۰۰,۰۰۰ نفر را مبتلا می‌کند. [۲] یکی از سازش‌های ذاتی ماشین سلولی جهت حفظ تعادل هموستاتیک بافت‌ها، آپوپتوز (فرایند مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول) است که هرگونه اختلال در فعال‌سازی یا عدم فعال‌سازی آن منجر به رشد و تکثیر غیرطبیعی سلول‌ها می‌شود و در نهایت توده انبوهی از سلول‌ها به نام تومور را ایجاد می‌کند که با نام بیماری سرطان شناخته می‌شود. [۳] پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و ژن‌درمانی از راهکارهای سرطان‌درمانی است که در این میان، استفاده از شیمی‌درمانی به راهکاری غالب بدل شده است. [۴]

در شیمی‌درمانی، از داروهای سایتوتوکسیک، از جمله دوکسوروبیسین، با اثرگذاری مستقیم و غیرمستقیم بر چرخه سلولی استفاده می‌شود. داروی دوکسوروبیسین ترکیبی چهارحلقه، بازی، محلول در آب و متعلق به خانواده آنتی‌بیوتیک‌های آنتراسایکلین است که در درمان طیف وسیعی از سرطان‌ها استفاده می‌شود [۵-۶] و به دلیل حضور گروه هیدروکسیل در ساختار آن پایداری زیادی در دما و رطوبت زیاد دارد. [۶] دوکسوروبیسین تمایل زیادی به اتصال به DNA دارد و با دخالت فیزیکی در عملکرد آنزیم توپوایزومراز II موجب اختلال فرایند همانندسازی می‌گردد و با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، مرگ سلولی و آپوپتوز را به همراه دارد؛ ولی به دلیل عملکرد غیرهدفمند داروهای شیمی‌درمانی، از جمله دوکسوروبیسین، رادیکال‌های آزاد اندام‌های دیگری از بدن نظیر قلب را مورد هدف قرار می‌دهد و عوارض جانبی بسیاری را برجای می‌گذارد. [۷] بنابراین به‌رغم کارایی زیاد این دارو در مهار رشد سلول‌های سرطانی، استفاده بالینی آن به دلیل عوارض جانبی زیاد و بروز مقاومت دارویی با چالش روبه‌رو شده است. [۸] نانوپزشکی به‌دنبال استفاده از ابزارها و نانوحامل‌هایی است که در سطح مولکولی با بدن وارد تعامل می‌شود تا از این طریق با انتقال دارو به بافت مورد نظر، کارایی درمان را افزایش و عوارض جانبی را کاهش دهد. [۹] در این میان نانوحامل‌های لیپیدی، از جمله لیپوزوم و نیوزوم، راهکارهایی نوین جهت انتقال دارو به بافت‌های سرطانی محسوب می‌شوند. [۱۰] لیپوزوم‌ها ساختارهای کروی هستند که از دولایه فسفولیپیدی ساخته شده‌اند که در هسته مرکزی خود یک فضای آبی را احاطه کرده‌اند. این

حامل‌ها را ال‌ک بنگام^۱ در دهه ۱۹۶۰ کشف کرد. [۱۱-۱۳] شباهت لیپوزوم با غشای سلول، سمیت سلولی پایین، تنوع و سهولت روش‌های تولید آن، لیپوزوم را به سامانه‌ای مطلوب در دارورسانی تبدیل کرده است. لیپوزوم‌ها توانایی به‌دام‌اندازی داروهای هیدروفیل در فضای آبی و هیدروفوب در میان دولایه لیپیدی خود را دارد. [۱۴] لیپوزوم‌ها برخلاف پایداری نسبی، به‌طور معمول در سیستم رتیکولواوندوتلیال^۲ تجمع می‌یابند؛ درحالی که در اهداف درمانی، دستیابی به سیستم دارورسانی مطلوب، نیاز به ساخت لیپوزوم با نیمه عمر بالا در گردش خون است. پوشاندن سطح لیپوزوم با ترکیباتی همچون پلی اتیلن گلیکول (PEG) به‌منظور پنهان ماندن از مکانیسم‌های کلیرانس خونی، روشی جهت افزایش نیمه عمر گردش خونی حامل حاوی دارو است. [۱۵] پژوهش حاضر با هدف سنتز فرمولاسیون‌های متفاوت با نانوذرات لیپونیوزومی حاوی دوکسوروبیسین برای دستیابی به فرمولاسیونی بهینه انجام شده است که طی آن، فرمولاسیون‌های اولیه از نظر کارایی درون‌گیری و رهایش دارو و فرمولاسیون بهینه از نظر کارایی درون‌گیری دارو، اندازه ذرات، رهایش ۴۸ ساعته و برهم‌کنش میان دارو و نانوسامانه مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر نوعی پژوهش کاربردی است که به‌صورت آزمایشگاهی انجام شده است. مراحل تحقیق به این شرح است:

۲.۱. مواد شیمیایی

داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید به‌صورت ویال‌های تزریقی با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متعلق به شرکت سل فارم آلمان و کلاسترول، فسفولیپید دیپالمیتوفسفاتییدیل کولین (DPPC)، سوربیتان مونو استئارات (SPAN-60) و پلی اتیلن گلیکول (DSPE-PEG2000) متعلق به شرکت مرک آلمان تهیه و خریداری شد.

۲.۲. ترسیم نمودار کالیبراسیون دوکسوروبیسین هیدروکلراید و به‌دست آوردن معادله خط

به‌منظور رسم نمودار کالیبراسیون دارو و به‌دست آوردن معادله خط آن، غلظت‌های مختلفی از استوک داروی دوکسوروبیسین در ایزوپروپیل و بافر فسفات سالین^۳ به روش سری استاندارد ساخته شد. سپس جذب نوری آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ماکزیمم دوکسوروبیسین (۴۸۱ نانومتر) با تکرارهای سه‌تایی (محدوده تابعیت رابطه جذب و

3. Phosphate Buffered Saline

1. Alec Bangham

2. Reticuloendothelial system

دوکسوروبیسین در حلال کلروفرم و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد بر روی روتاری (هایدولف، آلمان) حل شد و تحت شرایط خلأ، فیلم نازک خشک تهیه گردید. سپس عمل هیدراته کردن با افزودن مقدار مشخصی آبمقطر استریل، طی مدت ۴۵ دقیقه و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. در نهایت نانوذرات تهیه‌شده با استفاده از سونیکیت حمامی با فرکانس $28 \pm 5\%$ کیلوهرتز برای مدت ۶۰ دقیقه کاهش سایز داده شد. [۱۷]

جدول ۱. فرمولاسیون‌های اولیه لیپونیوزوم‌های حاوی داروی دوکسوروبیسین

نام فرمول	Lipid/Drug	DPPC (%)	Cholesterol (%)	Spsn60(%)
A	۱۰	۷۲	۸	۲۰
B	۱۰	۶۴	۱۶	۲۰
C	۱۰	۵۶	۲۴	۲۰
D	۱۰	۴۸	۳۲	۲۰
E	۱۰	۴۰	۴۰	۲۰

بسته) با تنظیمات یادشده استیرر شد. نمونه‌برداری از محیط اطراف کیسه دیالیز در زمان‌های مشخص صورت پذیرفت. در انتها با بهره‌گیری از معادله کالیبراسیون دوکسوروبیسین در بافر فسفات سالین نسبت به محاسبه غلظت‌های آزادشده دارو در دماهای ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد و به ترتیب با pHهای ۷/۴ و ۵ در زمان‌های مختلف و رسم نمودار آن اقدام شد. [۱۶-۱۷]

۲.۶. انتخاب فرمولاسیون نهایی

برای انتخاب فرمولاسیون نهایی، در مرحله نخست بر مبنای درصد احتباس دارو در نانولیپونیوزوم و تأثیر درصد کلسترول بر میزان احتباس دارو، از بین فرمول‌های اولیه A، B، C، D و E، سه فرمول انتخاب شد. در مرحله دوم، الگوی رهایش دارو از نانولیپونیوزوم‌های حاصل از سه فرمول منتخب مورد بررسی قرار گرفت و بر اساس نحوه رهایش دارو، فرمول نهایی انتخاب شد و به بررسی اثر پلیمر پلی اتیلن گلیکول (DSPE-mPEG2000) (۳ M٪) بر فرمولاسیون نهایی پرداخته شد. سرانجام ویژگی‌های فیزیوشیمیایی نانولیپونیوزوم‌های نهایی مورد مطالعه قرار گرفت.

۲.۷. تعیین اندازه نانوذرات و ضریب پراکندگی و پتانسیل زتا

پتانسیل زتا ی فرمولاسیون‌های لیپونیوزومی، شاخص پراکندگی^۲ و سایز آن‌ها با استفاده از دستگاه زتا سایزر شرکت مالورن اینسترومنت، مدل نانو زتا سایزر ای.اس در دمای اتاق و زاویه ۹۰ درجه اندازه‌گیری شد.

غلظت از قانون بیر لامبرت) گرفته شد و نمودار کالیبراسیون رسم و معادله خط و ضریب رگرسیون آن محاسبه گردید. [۱۶]

۲.۳. ساخت لیپونیوزوم حاوی دوکسوروبیسین هیدروکلراید

لیپونیوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین به روش آب‌پوشانی لایه نازک و با نسبت‌های مولی جدول ۱ تهیه شد که خلاصه آن بدین شرح است: ابتدا فسفولیپید DPPC، کلسترول، SPAN-60 و

۲.۴. تعیین درصد بارگذاری دارو در لیپونیوزوم

برای این منظور ابتدا لیپونیوزوم‌ها، بعد از کاهش سایز، وارد کیسه دیالیز شد و به مدت یک ساعت درون بشری محتوی بافر فسفات سالین (حجم بافر درون بشر سه برابر حجم نمونه لیپونیوزومی) و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا دوکسوروبیسین آزاد و محبوس‌نشده حذف گردد. سپس لیپونیوزوم‌های ساخته‌شده با نسبت‌های حجمی ۱:۱۰، ۱:۲۰ و ۱:۵۰، با ایزوپروپیل مخلوط شد تا دیواره لیپیدی اطراف دوکسوروبیسین شکسته شود و دارو آزاد گردد. در مرحله بعد میزان جذب دوکسوروبیسین محبوس‌شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ماکزیمم دوکسوروبیسین (۴۸۱ نانومتر) محاسبه شد. در پایان با استفاده از نمودار استاندارد دوکسوروبیسین در ایزوپروپیل و رابطه ۱، درصد لود دوکسوروبیسین در لیپونیوزوم محاسبه گردید. [۱۷]

رابطه ۱

$$\text{Entrapment Efficiency (\%EE)} = \frac{\text{Encapsulated Drug Concentration}}{\text{Primary used Drug Concentration}} \times 100$$

۲.۵. بررسی روند رهایش دارو

به‌منظور شبیه‌سازی رهایش دارو از حامل در محیط درون‌تنی، در بافر فسفات سالین و دمای ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد استفاده شد تا بتوان شرایط سینک درون‌تنی را برقرار کرد. در ادامه مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلول لیپونیوزومی حاوی داروی دوکسوروبیسین درون کیسه دیالیز قرار گرفت. سپس با قرار دادن کیسه دیالیز درون یک محیط ایزوله (فالكون استریل و

نانوحامل‌ها (زبری، شکل، صافی و توده‌ای شدن) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی^۱ با قدرت ۱۰۰ وات بررسی گردید.

۲.۱.۰. نرم‌افزارهای مورد استفاده

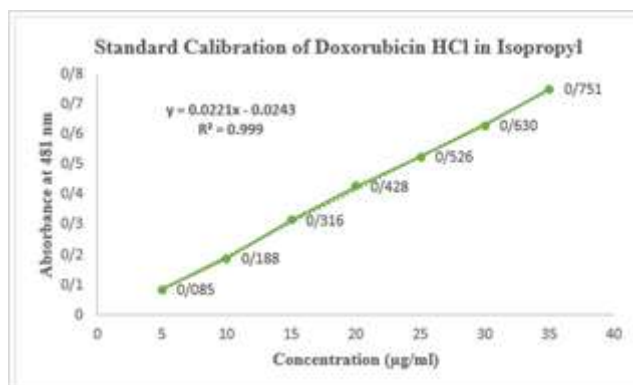
در پژوهش حاضر، برای تفسیر داده‌های عددی حاصل از آزمون‌ها، انحراف معیار و انحراف از میانگین داده‌های هریک از آزمون-ها در محیط نرم‌افزار Excel محاسبه و نمودارهای مرتبط با رهايش دارو و کالیبراسیون در این محیط رسم شد.

۳. یافته‌های پژوهش

۳.۱. بررسی بازده احتباس دارو در فرمولاسیون‌های اولیه

لیپونیوزومی

بازده احتباس دارو درون سامانه‌های لیپونیوزومی با استفاده از معادله خط دوکسوروبیسین هیدروکلراید در ایزوپروپیل (شکل ۱) و رابطه ۱ محاسبه شد و نتایج آن برای فرمولاسیون‌های اولیه A، B، C، D و E در جدول ۲ بیان شد.



شکل ۱. نمودار کالیبراسیون داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید در ایزوپروپیل

جدول ۱. میزان بارگذاری داروی دوکسوروبیسین در نانوحامل لیپونیوزومی

فرمول	درصد بارگذاری دارو (% EE Mean ± SD)
A	۶۸/۰۵ ± ۱/۳۲
B	۸۹/۹۸ ± ۱/۵۸
C	۷۲/۳۸ ± ۱/۶۸
D	۶۳/۴۸ ± ۲/۸۲
E	۶۱/۵۸ ± ۲/۹۸

تأثیری دوگانه دارد؛ به‌گونه‌ای که با کاهش درصد کلسترول تا اندازه‌ای معین، بازده احتباس داروی دوکسوروبیسین در سامانه لیپونیوزومی افزایش پیدا می‌کند و سپس با بالا رفتن غلظت این ماده در ساختار نانولیپونیوزوم، درصد احتباس دارو کاهش می‌یابد.

۲.۸. آنالیز سامانه لیپونیوزومی حاوی دوکسوروبیسین با

دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز

هدف این مرحله بررسی برهم‌کنش‌های شیمیایی میان سامانه لیپونیوزومی و دارو است. برای این منظور حامل‌های لیپونیوزومی با سانتریفیوژ از سوسپانسیون جدا و محلول اضافی تبخیر شد. نمونه‌ها با KBr مخلوط و درون پلیت فشرده شد. طیف FT-IR به منظور بررسی گروه‌های عاملی نانولیپونیوزومی در محدوده طول موج $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ برای نمونه‌های جامد و طیف FT-IR $600-4000 \text{ cm}^{-1}$ برای نمونه‌های مایع اسکن شد. بدین منظور طیف داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید تهیه و با طیف فرمولاسیون نهایی فاقد دارو و حاوی دارو مقایسه شد.

۲.۹. تصویربرداری از نانولیپونیوزوم‌های حاوی

دوکسوروبیسین

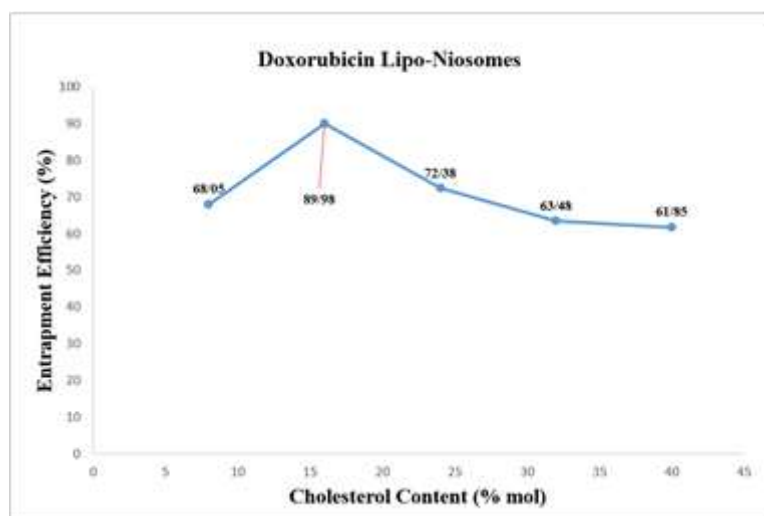
مقدار ۲۵ میکرولیتر از نمونه لیپونیوزومی بر روی یک لام ریخته و محلول در مجاورت هوا خشک شد. نمونه‌ها چند ثانیه با طلا پوشش داده شد تا رسانا شود. سپس مورفولوژی سطحی

همچنین اطلاعات به دست آمده از مقایسه نسبت‌های مولی استفاده شده برای ساخت هر فرمول (جدول ۱) و نتایج احتباس دارو (جدول ۲) و تأثیر غلظت کلسترول بر بازده احتباس دارو (شکل ۲) نشان می‌دهد میزان غلظت کلسترول بر بازده احتباس

1. scanning electron microscope

فرمولاسیون های اولیه انتخاب شد تا با تست های تکمیلی آنها، فرمولاسیون نهایی انتخاب گردد.

از این رو با توجه به درصد احتباس و تأثیر غلظت کلسترول بر بازده احتباس، فرمولاسیون های اولیه A، B و C، از میان سایر

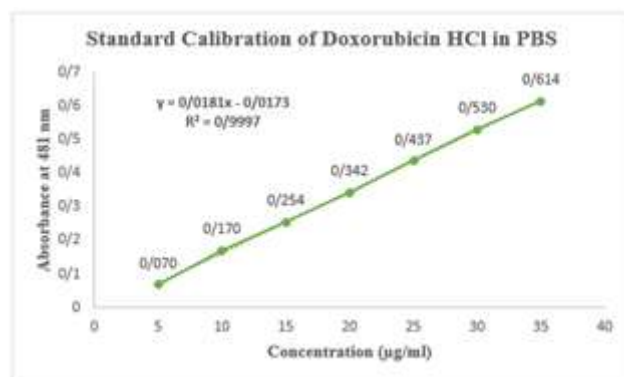


شکل ۲. بررسی تأثیر افزایش غلظت کلسترول بر بازده درون گیری نانوحامل لیپونیوزومی

۴۲ درجه سانتی گراد در مدت زمان ۴۸ ساعت با استناد به نمودار کالبراسیون دوکسوروبیسین در بافر فسفات سالین و معادله خط راست آن و رابطه های موجود محاسبه و در جدول ۳ ارائه شد.

۳.۲. بررسی الگوی رهائش فرمولاسیون های اولیه A، B و C و انتخاب فرمولاسیون نهایی

میزان رهائش داروی دوکسوروبیسین از سه فرمولاسیون انتخابی (فرمولاسیون های اولیه A، B و C) در دو دمای ۳۷ و



شکل ۳. نمودار کالبراسیون داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید در فسفات سالین

جدول ۳. میزان رهائش داروی دوکسوروبیسین (۴۸ ساعت)

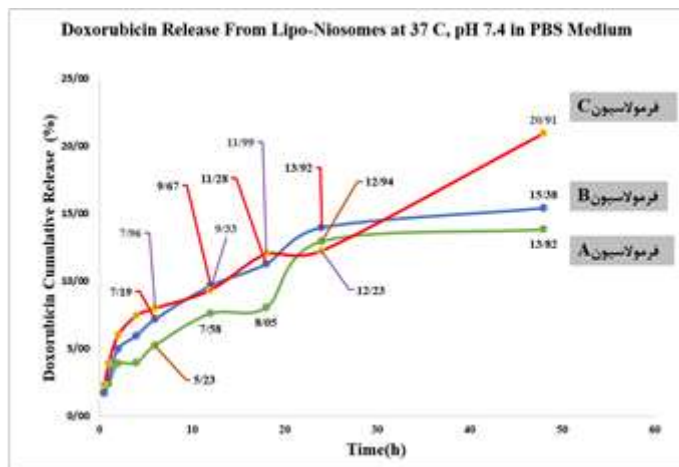
فرمول	درصد رهائش در ۳۷ درجه سانتی گراد	
	درصد رهائش در ۳۷ درجه سانتی گراد	درصد رهائش در ۴۲ درجه سانتی گراد
A	۱۳/۸۲	۱۵/۸
B	۱۵/۳۸	۲۰/۸
C	۲۰/۹۱	۳۱/۳۵

شاهد رهائش انفجاری هستیم. در فاز دوم، شیب نمودار رهائش دارو کاهش می یابد؛ به گونه ای که در پنج ساعت اول، بالاترین میزان رهائش دارو را خواهیم داشت و در ادامه با رهائش

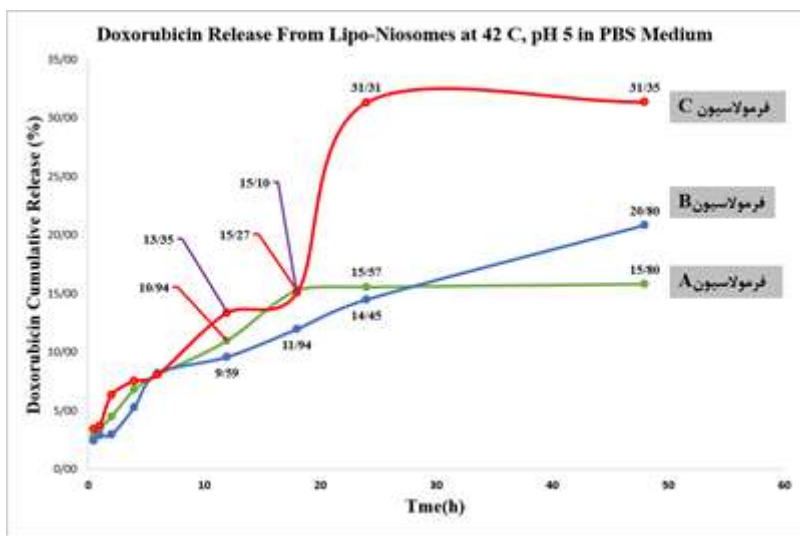
همان گونه که در نمودار رهائش دارو دیده می شود (شکل ۴-۵)، نمودار دارای دو فاز نمایی است که در فاز اول، با توجه به شیب غلظت ایجاد شده بین دارو، درون لیپونیوزوم و بافر،

که داروی دوکسوروبیسین در سایت توموری تحویل داده می شود و فرمولاسیون پیشنهادی می تواند به عنوان یک نانوسامانه نیمه هدفمند سلول های سالم را از دسترس دارو دور نگه دارد.

آهسته تر دارو، میزان رهایش ثابت می شود و با یک شیب آهسته می تواند سلول های سرطانی را به مدت زمان طولانی تر در معرض دارو قرار دهد. از سوی دیگر رهایش بالاتر دارو در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و $pH = 5$ این اطمینان را حاصل می کند



شکل ۴. پروفایل رهایش دوکسوروبیسین از لیپونیوزومها - سینک سلول سالم



شکل ۵. پروفایل رهایش دوکسوروبیسین از لیپونیوزومها - سینک سلول سرطان

بررسی درصد احتباس دارو نشان می دهد مقدار احتباس دارو در فرمولاسیون پگیله شده (فرمول B-PEG)، $3/21 \pm$ ۹۴/۱۷ درصد است که نسبت به فرمولاسیون نهایی پگیله نشده (فرمولاسیون B) حدود ۴ درصد افزایش یافته است. همچنین نتایج بررسی پروفایل رهایش دارو در دمای ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی گراد و به ترتیب در اسیدیته ۷/۴ و ۵ برای فرمولاسیون پگیله (B-PEG)، ضمن تأیید آهسته رهش بودن سامانه، نشان می دهد در مدت ۴۸ ساعت، حداکثر

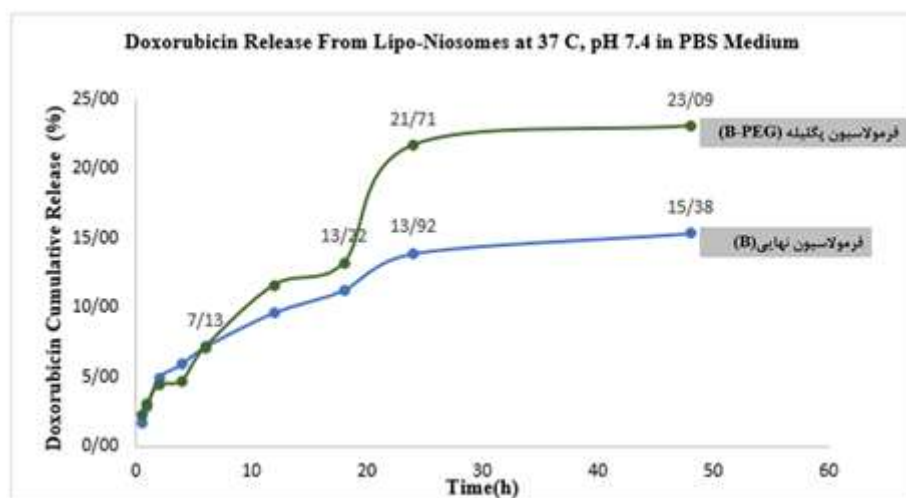
۳.۳. انتخاب فرمولاسیون نهایی

با در نظر گرفتن دو شاخص میزان درون گیری و رهایش دارو، از بین فرمولاسیون های اولیه A، B و C، فرمول B به عنوان فرمولاسیون نهایی انتخاب شد تا سایر تست های فیزیوشیمیایی بر روی آن انجام شود.

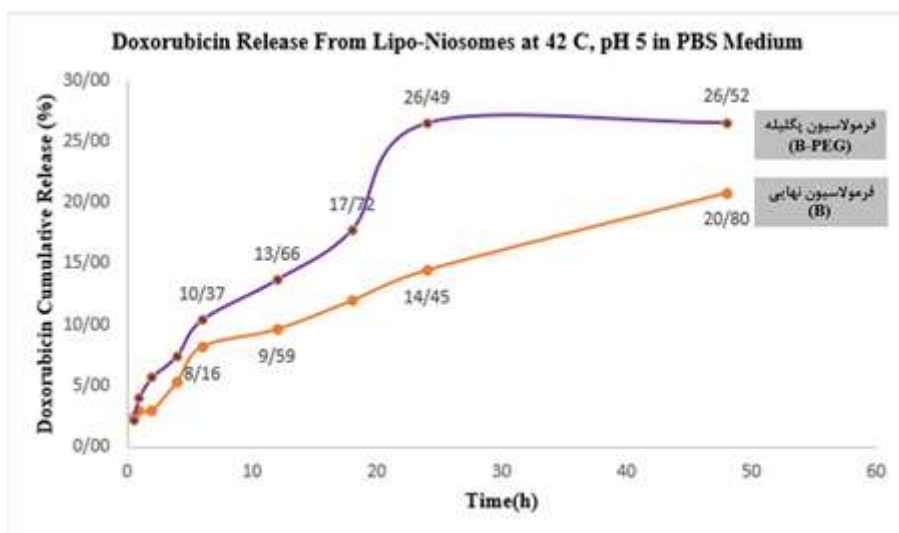
۳.۴. بررسی اثر پگیله کردن (افزودن پلیمر DSPE-mPEG2000) بر میزان احتباس و الگوی رهایش دارو در فرمولاسیون نهایی (فرمولاسیون B)

درجه سانتی‌گراد و $\text{pH} = 5$ (۲۶/۸۱ درصد است (شکل ۶-۷).

رهایش دارو در شرایط سلول نرمال (۳۷ درجه سانتی‌گراد و $\text{pH} = 7.4$) ۲۴/۴۳ درصد و در شرایط سلول سرطانی (۴۲



شکل ۶. پروفایل رهایش دوکسوروبیسین برای فرمولاسیون نهایی و پیگله - سینک سلول سالم



شکل ۷. پروفایل رهایش دوکسوروبیسین برای فرمولاسیون نهایی و پیگله - سینک سلول سرطانی

(شکل ۸ بالا)، پیک‌های شاخص $1631/71 \text{ cm}^{-1}$ ، $1431/71 \text{ cm}^{-1}$ و $3236/02 \text{ cm}^{-1}$ را نشان می‌دهد که پیک $1631/71 \text{ cm}^{-1}$ مشخصه داروی دوکسوروبیسین و پیک $1431/71 \text{ cm}^{-1}$ مشخص‌کننده گروه عاملی $\text{C} = \text{O}$ است. همچنین با مقایسه طیف FT-IR سامانه حاوی دارو (شکل ۸ پایین) و سامانه فاقد دارو (شکل ۸ وسط) آشکار می‌شود که با ورود دارو به سامانه، تغییراتی جزئی در پیک‌های شاخص سامانه حاوی دارو نسبت به سامانه فاقد دارو ایجاد شده که نشان می‌دهد دارو درون سامانه لود شده است. برای مثال پیک‌های $1632/07 \text{ cm}^{-1}$ ، $2126/29$ و $3243/99$

۳.۵. اندازه، شاخص پراکندگی ذرات و پتانسیل زتا در فرمولاسیون پیگله

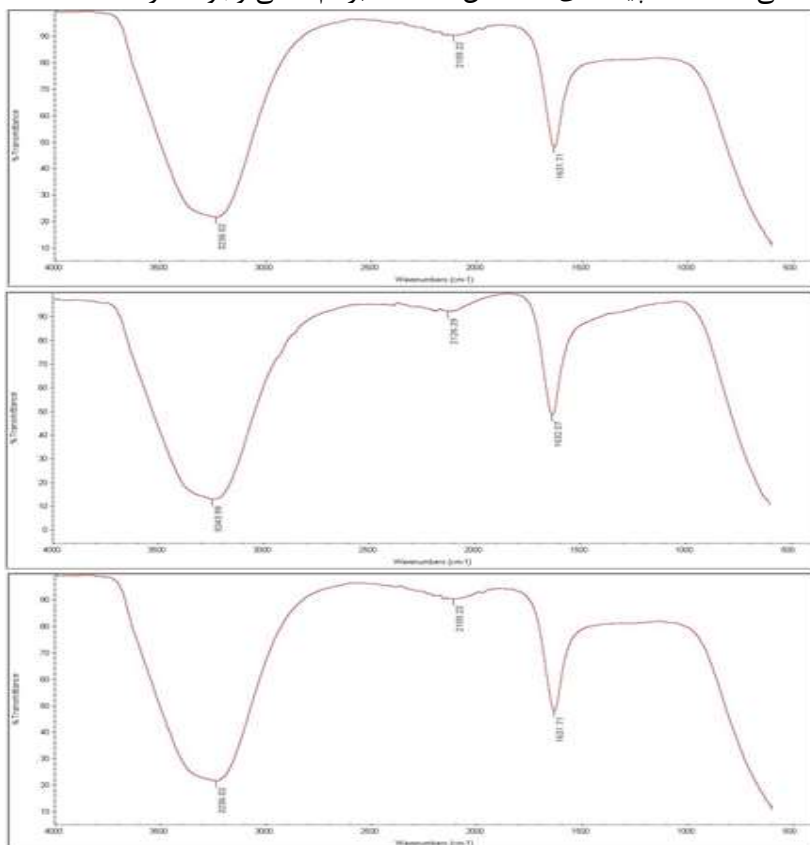
داده‌های به‌دست‌آمده از دستگاه DLS، اندازه نانوذره حاوی دوکسوروبیسین را $102/9$ نانومتر و میزان شاخص پراکندگی ذرات را $0/128$ نشان می‌دهد. همچنین میزان شارژ سطحی (پتانسیل زتا) برای نانولیپونیوزوم‌های پیگله شده $-6/67$ میلی‌ولت است.

۳.۶. نتایج بررسی طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR) فرمولاسیون پیگله

بررسی طیف FT-IR برای دوکسوروبیسین هیدروکلراید

دوکسوروبیسین در طیف لیپونیوزوم حاوی دارو مشاهده نمی‌شود که این موضوع نشان می‌دهد دوکسوروبیسین درون لیپونیوزوم به خوبی قرار گرفته است و میان سامانه و دارو برهم کنشی وجود ندارد.

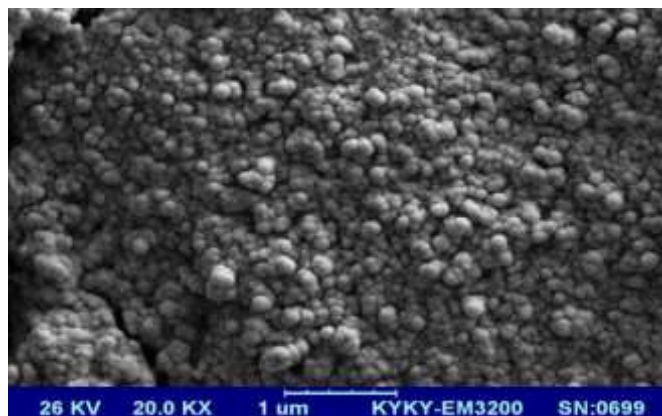
در سامانه فاقد دوکسوروبیسین با اندکی تغییر به ترتیب با پیک‌های $1632/13$ ، $2104/59$ و $3235/86$ ، در سامانه حاوی داروی دوکسوروبیسین جابه‌جا شده است. بررسی‌های فوق اثبات می‌کند که پیک‌های شاخص



شکل ۸. طیف FT-IR داکسوروبیسین (بالا)، لیپونیوزوم فاقد داکسوروبیسین (وسط) و لیپونیوزوم دارای داکسوروبیسین (پایین)

۲۰ حکایت از این دارد که نانوحامل ضمن برخورداری از ویژگی‌های مطلوب، وزیکولی و کروی بوده و سطح وزیکول‌ها صاف و هموار است.

۳.۷. بررسی تصویر میکروسکوپ الکترونی فرمولاسیون پگیله
تصویر میکروسکوپ الکترونی (شکل ۹) با بزرگ‌نمایی KX



شکل ۹. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سامانه پگیله حاوی دوکسوروبیسین

۴. بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر منتهی به سامانه پگیده‌شده لیپونیوزمی حاوی داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین شده که بررسی‌های فیزیوشیمیایی آن نشان می‌دهد که این نانوسامانه لیپیدی دارای بار سطحی منفی (آنیونی) و بازده احتباس $\pm 3/21$ است که حداکثر رهائش دارو برای این سامانه طی ۴۸ ساعت، در شرایط سلولی نرمال و سرطانی به ترتیب ۲۴/۴۳ و ۲۶/۸۱ درصد است. آنالیز نانوذره با دستگاه DLS تأیید می‌کند که فرمولاسیون پگیده لیپونیوزمی دارای اندازه ۱۰۲/۹ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۱۲۸ است. همچنین بررسی طیف FT-IR و تصویر میکروسکوپ روبشی از سامانه مذکور نشان می‌دهد داروی دوکسوروبیسین با نانوحامل لیپونیوزمی برهم‌کنشی نداشته است و نانوذرات حاصل ضمن برخورداری از اندازه و توزیع مناسب، دارای شکل کروی و سطحی صاف هستند.

پژوهش‌های متعددی درباره نانوحامل‌های لیپیدی صورت گرفته است. رسولیان بروجنی و همکاران [۱۸] در سال ۲۰۱۱، نانوذرات حاوی داروی اگزالی پلاتین را به روش رسوب‌دهی نانو تهیه و ارزیابی و درصد بارگذاری دارو و اندازه نانوذرات حاصل را به ترتیب ۳۶ درصد و ۱۹۴ نانومتر گزارش کردند. تفاوت در نوع نانوذره، روش ساخت نانوذره و نوع دارو از موارد مورد اختلاف میان نتایج پژوهش مذکور با پژوهش حاضر است.

شیخ و همکاران [۱۹] در سال ۲۰۱۳، بازده درون‌گیری، رهائش و حفظ دارو را از نظر محتوای یون فلز واسطه و مورفولوژی دو داروی داکسوروبیسین و اینروتکان درون سامانه لیپونیوزمی بررسی و پتانسیل درمانی آن را در شرایط بدن موجود زنده ارزیابی کردند. نتایج این پژوهش نشان داد پتانسیل درمانی سامانه‌های لیپونیوزمی حاوی داروهای مذکور بیشتر از داروهای آزاد است.

علوی و همکاران [۲۰] در سال ۲۰۱۳، نانولیپوزوم‌های حاوی هیدروکسی اوره را به منظور اثرگذاری بر سرطان سینه تهیه کرده، طی آن، بازده احتباس ۷۰/۸۳۶ درصد، اندازه ۴۰۲/۵ نانومتر و میزان رهائش ۲۸/۸۵ ساعت ۲۸ درصد را برای این نانوحامل گزارش کردند. رهائش آهسته‌تر، اندازه ذرات کوچک‌تر و بازده احتباس بالاتر از برتری‌های پژوهش حاضر بر پژوهش علوی است که به نظر می‌رسد این مزایا ناشی از استفاده از نانوحامل هیبرید لیپونیوزمی برای انتقال دارو در پژوهش حاضر باشد.

فانگ و همکاران [۲۱] در سال ۲۰۱۳، نانولیپوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین را تهیه کردند و اندازه ذرات حاصل را ۵۰-۷۰ نانومتر و درصد بارگذاری دارو را ۲۱-۵۱ درصد گزارش نمودند. هرچند اندازه نانوذرات پژوهش فانگ و همکاران

کوچک‌تر است، درصد احتباس داروی آن در مقایسه با پژوهش حاضر کاهش چشمگیری را نشان می‌دهد.

علوی و همکاران [۲۲] در سال ۲۰۱۴، نانوحامل‌های لیپونیوزمی پگیده‌شده محتوای هیدروکسی اوره را به دست آوردند و اندازه، درصد بارگذاری و رهائش ۲۸ ساعت این نانوسامانه را به ترتیب ۳۳۸/۲ نانومتر، ۶۴/۲۱۲ و ۲۱/۷۱ درصد بیان کردند. کوهی مفتخری اصفهانی و همکاران [۲۳] در سال ۲۰۱۴، نانولیپوزوم‌های پگیده حاوی داروی پاکلی تاکسل را تهیه کردند که این نانوسامانه‌های دارویی دارای میزان احتباس ۹۵/۲ درصد و اندازه در مقیاس نانویی بودند. رهائش آهسته‌تر، بررسی پروفایل رهائش در ۴۸ ساعت، اندازه ذرات کوچک‌تر از مزایای پژوهش حاضر بر پژوهش‌های علوی و همکاران و کوهی مفتخری و همکاران است.

آلیان و همکاران [۲۴] در سال ۲۰۱۶، نانولیپوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین را به روش شیب گرادیان تهیه و اندازه ذرات حاصل ۱۱۰ نانومتر و بازده احتباس دارو درون لیپوزوم‌ها را ۹۰ درصد گزارش کردند. تفاوت در روش ساخت و نوع نانوذره مورد استفاده از اختلافات پژوهش آلیان و همکاران و پژوهش حاضر است.

حقیرالسادات و همکاران [۲۵] در سال ۲۰۱۶، داروی دوکسوروبیسین را با هدف اثرگذاری بر سرطان استخوان درون حامل‌های لیپونیوزمی بارگذاری کردند که نانوسامانه‌های ساخته شده ضمن برخورداری از میزان احتباس ۸۹ درصد، دارای اندازه‌های حدود ۱۲۶ نانومتر بودند. حداکثر رهائش داروی دوکسوروبیسین در مدت ۴۸ ساعت در این پژوهش، ۴۶ درصد بوده است. همچنین حقیرالسادات و همکاران [۲۶] در سال ۲۰۱۷، فرمولاسیون جدیدی را برای تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین پیشنهاد کردند که سایز متوسط و زیکول‌ها، بازده احتباس، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتای فرمول پیشنهادشده به ترتیب ۹۳/۶۱ نانومتر، ۸۲/۸ درصد، ۰/۱۴ و ۲۳- میلی‌ولت بوده است. نتایج پژوهش‌های حقیرالسادات و همکاران در سال‌های ۲۰۱۶ و ۲۰۱۷ بسیار نزدیک به پژوهش حاضر است؛ اگرچه پژوهش حاضر به سبب استفاده از حامل‌های هیبرید لیپونیوزمی، در مقایسه با پژوهش‌های حقیرالسادات و همکاران از نوآوری برخوردار است.

نادری‌نژاد و همکاران [۲۷] در سال ۲۰۱۷، ویزیکول‌های نیوزومی حاوی کورمومین را تهیه کردند که دارای اندازه‌های معادل ۲۴۲ نانومتر، بازده احتباس دارو ۹۵/۲ درصد، پتانسیل زتای ۳۸- میلی‌ولت و شاخص پراکندگی ۰/۱۷ بود. این پژوهش نشان می‌دهد حداکثر رهائش دارو در طی ۹۶ ساعت، ۴۳/۸۷ درصد است.

دارای اندازه، پتانسیل زتا و بازده احتباس ۱۴۷/۵ نانومتر، ۸/۹- میلی‌ولت و $۱/۸۵ \pm ۹۸/۱۲$ درصد است. نتایج پژوهش ساسانی و همکاران به نتایج پژوهش حاضر بسیار نزدیک بوده است. به نظر می‌رسید رهایش بیشتر دارو در شرایطی مشابه سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های سالم در پژوهش حاضر ناشی از تفاوت دمایی و اسیدیته سلول سرطانی و سالم باشد که منجر به نشت بیشتر دارو از نانوهیبرید لیپونیوزومی در شرایط سلول سرطانی شده است. این واقعیت می‌تواند اطمینان دهد که داروی دوکسوروبیسین توسط نانوهیبرید لیپونیوزومی، در سایت توموری به میزان بیشتری تحویل داده می‌شود و با تحویل کمتر این دارو به سلول‌های سالم، این سلول‌ها را از اثرات جانبی داروی دوکسوروبیسین به صورت مؤثرتری محافظت کند. اگرچه روش‌های معمول مبارزه با سرطان از جمله شیمی درمانی توانسته‌اند از پیشرفت این بیماری بکاهند، به دلیل غیرهدفمند بودن داروهای ضدسرطان و ایجاد عوارض جانبی متعدد، با مشکلات گسترده‌ای روبه‌رویند. بنابراین دستیابی به استراتژی‌های نوین به منظور بهبود سیستم دارورسانی به سلول‌های سرطانی که بتواند جایگزین مناسب برای سیستم‌های دارورسان معمول باشد، می‌تواند بسیاری از چالش‌های پیش روی علم پزشکی را کاهش دهد یا برطرف نماید. در پژوهش حاضر، داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین به منظور افزایش شاخصه‌های درمانی آن و در نتیجه عملکرد بهتر دارو در شرایط حاکم بر محیط سلول‌های سرطانی، درون سامانه‌های نانولیپونیوزومی بارگذاری شده است. البته بررسی سمیت و آزمایش‌های درون‌تنی و برون‌تنی این سامانه آنیونی حاوی دوکسوروبیسین قبل از هرگونه استفاده بالینی ضروری است. در این مطالعه، ضمن بررسی ویژگی‌های فیزیوشیمیایی فرمولاسیون‌های لیپونیوزومی مختلف حاوی دوکسوروبیسین، سرانجام فرمول پگیله‌شده‌ای برای بارگذاری دوکسوروبیسین پیشنهاد شد که علاوه بر برخورداری از الگوی رهایش کنترل‌شده در شرایط سلول نرمال و سرطانی، دارای شاخصه‌های فیزیوشیمیایی مطلوب از جمله، بار الکتریکی سطحی منفی، میزان درون‌پوشانی بالا، شاخص پراکندگی مناسب و اندازه‌ای در حدود ۱۰۰ نانومتر، است که می‌تواند به‌عنوان ترکیب ضدتوموری استفاده شود.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در انجام این پروژه یاری نموده‌اند، قدردانی می‌شود.

شیرزاد و همکاران [۲۸] در سال ۲۰۱۷، ضمن بارگذاری ماده سیس پلاتین با درصد بارگذاری ۹۸ درصد درون نانولیپوزوم، پتانسیل زتا، اندازه و شاخص پراکندگی ذرات را به ترتیب، ۱۸/۱- میلی‌ولت، ۱۰۰ نانومتر و ۰/۴ گزارش کردند. پتانسیل زتای مثبت‌تر، شاخص پراکندگی ذرات کمتر و استفاده از نانوحامل نوین هیبریدی از جمله برتری‌های پژوهش حاضر بر پژوهش شیرزاد و همکاران است.

حقیرالسادات و همکاران [۱۷] در سال ۲۰۱۷، نانولیپوزوم-های حاوی داروی دوکسوروبیسین را به دو روش شیب‌گردان و لایه نازک تهیه کردند که بازده احتباس دارو، اندازه و رهایش دارو در مدت ۴۸ ساعت برای نانولیپوزوم حاصل از شیب‌گردان به ترتیب ۸۹ درصد، ۱۰۵/۹ نانومتر و ۲۴ درصد و برای نانولیپوزوم‌های حاصل از لایه نازک به ترتیب ۱۵/۶۵ درصد، ۱۳۸/۶ نانومتر و ۷۸ درصد بوده است. میزان احتباس بالاتر و هیبریدی بودن نانوحامل‌ها در پژوهش حاضر از مزایای آن بر پژوهش حقیرالسادات و همکاران است.

نادری‌نژاد و همکاران [۲۹] در سال ۲۰۱۷، نانولیپونیوزوم-های حاوی دوکسوروبیسین را به دست آوردند و سمیت آن را بر رده‌های سلولی KG-1 مغز استخوان، Saos-2 استئوسارکوما و MG-63 استیوبلاست سنجیدند و گزارش کردند که دوکسوروبیسین محبوس‌شده باعث کاهش بیشتر بقای سلول‌های سرطانی نسبت به شکل آزاد این دارو می‌شود.

حقیرالسادات و همکاران [۳۰] در سال ۲۰۱۸، فرمولاسیون‌هایی از لیپوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین را تهیه کردند که درصد احتباس در همه فرمولاسیون‌ها بالای ۸۲ درصد و پتانسیل زتای فرمولاسیون‌های مختلف تهیه‌شده از ۲۳- تا ۲۲/۴+ متغیر بوده است. همچنین مطابق نتایج این پژوهش، در مدت ۴۸ ساعت، ۴۳ درصد دارو از لیپوزوم‌ها آزاد شده است. احتباس بالاتر، پتانسیل زتای مثبت‌تر، رهایش کنترل‌شده‌تر و هیبریدی بودن نانوحامل‌ها در پژوهش حاضر از مزیت‌های آن بر پژوهش حقیرالسادات و همکاران به‌شمار می‌رود.

مجدی‌زاده و همکاران [۱۶] در سال ۲۰۱۸، نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس نعناع فلفلی را تهیه کردند که وزیکول‌های لیپوزومی حاوی اسانس با اندازه $۱۳/۳۹ \pm ۲۴۷$ نانومتر، $۲/۷ \pm ۶۱/۳۸$ درصد میزان بازده احتباس، پتانسیل زتا $۰/۷۴ \pm ۳۴/۵۴$ - میلی‌ولت و شاخص پراکندگی $۰/۱ \pm ۰/۳۲$ است. ساسانی و همکاران [۳۱] در سال ۲۰۱۸، هیبریدهای لیپونیوزومی حاوی کورکومین را به دست آوردند که به ترتیب

References

- [1]. Pecorino Lauren. Molecular biology of cancer mechanism, targets and therapeutics. 2th ed; 2008.
- [2]. Cancer Control: a Global Snapshot in 2015 Summary of Results From the 2015 Who Ncd Country Capacity Survey. world Heal. Organ. 2015: 1-6
- [3]. Karamboulas C, Ailles L. Developmental signaling pathways in cancer stem cells of solid tumors. Biochim. Biophys. Acta (BBA)-General Subj. 2013; 1830(2): 2481-95.
- [4]. Tinsley R. Harrison, Braunwald E. Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc; 2008.
- [5]. Pigram W-J, Fuller W, Hamilton LD, Stereochemistry of intercalation: interaction of daunomycin with DNA. Nature. 1972; 235(53): 17-19.
- [6]. Kaufmann SH, Earnshaw WC. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. Exp. Cell Res. 2000; 256(1): 42-9.
- [7]. D. Jain D. Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives. J. Nucl. Cardiol. 2000; 7(1): 53-62.
- [8]. Al-Lazikani B, Banerji U, Workman P. Combinatorial drug therapy for cancer in the post-genomic era. Nat. Biotechnol. 2012; 30(7): 679-92.
- [9]. Karewicz A, Bielska D, Loboda A, Gzyl-Malcher B, Bednar J, Jozkowicz A, Dulak J, Nowakowska M. Curcumin-containing liposomes stabilized by thin layers of chitosan derivatives. Colloids Surfaces B Biointerfaces. 2013; 109(1): 307-316.
- [10]. Mirahmadi N, Babaei MH, Vali AM, Dadashzadeh S. Effect of liposome size on peritoneal retention and organ distribution after intraperitoneal injection in mice. Int. J. Pharm. 2010; 383(1): 7-13.
- [11]. Daraee H, Etemadi A, Kouhi M, Alimirzalu S, Akbarzadeh A. Application of liposomes in medicine and drug delivery. Artif Cells, Nanomedicine, Biotechnol. 2016; 44(1): 381-91.
- [12]. Cheraghi M, Negahdari B, Daraee H, Etemadi A. Heart targeted nanoliposomal/nanoparticles drug delivery: An updated review. Biomed Pharmacother. 2017; 86(1): 316-23.
- [13]. Mansoori MA, Agrawal S, Jawade S, Khan MI. A review on liposome. 2012; 2(4): 453-64.
- [14]. Allen TM, Hansen CB, de Menezes DEL. Pharmacokinetics of long-circulating liposomes. Adv. Drug Deliv. Rev. 1995; 16(2): 267-84.
- [15]. Wang J, Ma W, Tu P. Synergistically Improved Anti-tumor Efficacy by Co-delivery Doxorubicin and Curcumin Polymeric Micelles. Macromol. Biosci. 2015; 15(9): 1252-61.
- [16]. Majdizadeh M, Rezaei Zarchi S, Movahedpour AA, Shahi Malmir H, Sasani E, Haghirsadat BF. A new strategy in improving therapeutic indexes of medicinal herbs: preparation and characterization of nano-liposomes containing Mentha piperita essential oil. J Shaeed Sdoughi Univ Med Sci Yazd. 2018; 25(10): 853-64.
- [17]. Haghirsadat BF, Amouabedini G, Naderinezhad S, Sheikhha MH, Malaei-balasi Z, Akbarzadeh A, et al. An evaluation of the transmembrane ammonium sulfate gradients method in lipid system to improve trapping capacity of amphipathic weak. New Cell Mol Biotechnol J. 2017; 7(28): 49-60
- [18]. Rasoulian-broujeni M, Najafi S, Hojati-emami S, Dehghan mohammad mehdi. Preparation and evaluation of nanoparticles containing oxaliplatin for target drug release at the site of breast tumor. Iran J Breast Dis. 2011; 4(3): 33-43.
- [19]. Shaikh IM, Tan KB, Chaudhury A, Liu Y, Tan BJB, Chiu GNC. Liposome co-encapsulation of synergistic combination of irinotecan and doxorubicin for the treatment of intraperitoneally grown ovarian tumor xenograft. J. Control. Release. 2013; 172(3): 852-61.
- [20]. Alavi SE, Koochi-moftakhar-esfahani M, Akbarzadeh A. Evaluating the effect of nanoliposomal hydroxyurea urea on the breast cancer cell line. New Cellular & Molecular Biotechnology Journal. 2013; 3: 63-7.
- [21]. Fang Y, Wu X, Chen J, Dang S, Jiang D, Chen M, et al. Preparation and Characterization of mPEG Modified Magnetic Long-Circulating Doxorubicin Hydrochloride Liposomes. Adv Mater Res. 2013; 661: 87-90.
- [22]. Alavi SE, Koochi-moftakhar-esfahani M, Akbarzadeh A. Cytotoxic activity of pegylated nanoliposomal hydroxyurea in MCF-7 cell line. New Cellular & Molecular Biotechnology Journal. 2014; 4: 33-6.
- [23]. Maedeh Koochi moftakhari esfahani, Alavi seyed ebrahim, Akbaezadeh A. Drug delivery of pegylated nanoliposomal paclitaxel to breast. New Cell Mol Biotechnol J. 2014; 4(14): 47-50.
- [24]. Alyane M, Barratt G, Lahouel M. Remote loading of doxorubicin into liposomes by transmembrane pH gradient to reduce toxicity toward H9c2 cells. SAUDI Pharm J. 2016; 24(2): 165-75.
- [25]. Haghirsadat BF, Amouabedini G, Sheikhha MH, Mohammadnezhad MJ, Nadernezhad S, Malaei-balasi Z, et al. New Approach for the Synthesis, Entrapment of Hydrophilic Drugs and Evaluation of Physico-Chemical Characteristics of PH-sensitive Nano-Liposome: Improving Therapeutic Efficacy of Doxorubicin in Order to Treatment Bone Tumor and Reducing the Side Effects. J Shaeed Sdoughi Univ Med Sci Yazd. 2016; 24(10): 780-9.
- [26]. Haghirsadat F, Amouabedini G, Sheikhha MH, Zandieh-doulabi B, Naderinezhad S, Helder MN, et al. New liposomal doxorubicin nanoformulation for osteosarcoma: Drug release kinetic study based on thermo and pH sensitivity. Chem Biol Drug Des. 2017; 90(3): 368-79.
- [27]. Naderinezhad S, Haghirsadat BF, Amouabedini G, Naderinezhad A, Esmaeili Z, Akbaezadeh A. Synthesis of biodegradable and self-assembled anionic nano-carrier: Novel approach for improvement of Curcumin- delivery to bone tumors cells & Mathematical modeling of drug-release kinetic. New Cell Mol Biotechnol J. 2017; 7(27): 77-84.
- [28]. Shirzad M, Jamehbozorgi S, Aghabozorg H, Akbarzadeh A. Drug Delivery of Pegylated Nanoliposomal Cisplatin in Ovarian Cancer Cell Line A2780CP: in vitro Study. Vol. 7, New Cellular & Molecular Biotechnology Journal. 2017; 7: 77-84.
- [29]. Naderinezhad S, Amouabedini G, Haghirsadat F. Co-delivery of hydrophilic and hydrophobic anticancer drugs using biocompatible pH-sensitive lipid-based nano-carriers for multidrug-resistant cancers. RSC Adv. 2017; 7(1): 30008-19.
- [30]. Haghirsadat BF, Nadernezhad S, Amouabedini G, Montazeri F, Zandieh-doulabi B. effects of surface charge on cytotoxicity of liposomal Doxorubicin on bone cancer cell line. Daneshvar Med. 2018; 25(133): 19-26.
- [31]. Sasani E, Shahi Malmir H, Daneshmand F, Majdizadeh M, Haghirsadat B F. A new study on synthesis and optimization of PEGylated LipoNiosomal nanocarriers containing curcumin for use in cancer chemotherapy . JSSU. 2018; 26 (6): 528-41

Synthesis and Physicochemical Characterizing of Liponiosomal Hybrid Nano-Carriers as Carriers for Doxorubicin HCl Anti-Cancer Drug

Elham Sasani¹, Hashem Shahi Malmir², Fatemeh Daneshmand³, Mohammad Majdizadeh⁴, Bibi Fatemeh Haghirsadat^{*5,6}

1. MSc Department of Biology, Taft Payame Noor University, Yazd, Iran
2. MSc Department of Biology, Nourdanesh Higher Education Institute, Meymeh, Isfahan, Iran
3. Assistant Professor, Biology Department of Payame Noor University, Tehran, Iran
4. MSc Nano-Biotech Foresight Company Biotechnology Campus, Science & Technology Park of Yazd, Yazd, Iran
5. Medical Nanotechnology & Tissue Engineering Research Center, Yazd Reproductive Sciences Institute, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
6. Assistant Professor, Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract

Introduction: Lipid nano-carriers with slow release and semi-targeted delivery of the drug can reduce some of the challenge of drug delivery to cancer cells. The aim of this study was to prepare and evaluate physicochemicals of various formulations of the liponiosomal system containing doxorubicin in order to achieve targeted formulation in order to better fight cancer cells.

Materials and Methods: Nano-carriers were synthesized using different molar ratios of structural elements such as Dipalmitoylphosphatidylcholine, Cholesterol, Sorbitan ester and 3 out of 5 synthesized formulation were chose based on encapsulation efficiency. Then, in order to determine the final formula, release profiles comprised by dialysis and spectroscopy methods. The final formula was PEGylated by using DSPE-mPEG (2000) in order to investigate its effects on encapsulation efficiency and release profiles in healthy and cancerous cells simulated environment. Physicochemical characteristics such as size, zeta potential, Polydispersity Index (PDI), IR spectrum, and morphology were identified.

Results: The final PEGylated formula encapsulating doxorubicin had 102.9 nm size, $94.17 \pm 3.21\%$ encapsulation efficiency, -6.67 mV zeta potential and 0.128 PDI. The maximum release rate of the drug for this nano-carrier in healthy and cancerous within 48 hours was 24.43% and 26.81% respectively. IR and morphological investigations showed no chemical interaction between drug and nanocarrier and the particles are spherical in shape.

Conclusion: The result of this research indicates that the new PEGylated liponiosomal system, having the appropriate physicochemical properties, has not changed the chemical nature of drug and thus can be a suitable and semi-targeted carrier for doxorubicin.

Received: 2018/10/01

Accepted: 2018/12/08

Keywords: Liponiosome, Doxorubicin, Drug Nano-Carrier, Anti-neoplastic Agents.