مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره پانزدهم، تابستان ۱۳۹۳

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

تهیه و بررسی آزمایشگاهی پاکلی تاکسل نانونیوزومه پگیله شده و نانولیپوزومه پگیله شده

محمد زارعی*[1]، مهدی ارجمند[2]، مهشید محمدی[3]، محسن چیانی[4]، حسن ابراهیمی شاهم آبادی[4]، عظیم اکبرزاده خیاوی[5]

*[1]کارشناس ارشد، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، شاهرود، ایران
[2] استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران
[3] مربی، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، مرودشت، ایران
[4] مربی، بخش پایلوت نانو بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
[5]استاد، بخش پایلوت نانو بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: یکی از داروهای شیمی درمانی مورد استفاده برای درمان سرطان پستان، پاکلی تاکسل است که استفاده از آن عوارض جانبی همچون تضعیف مغز استخوان را در پی دارد. اخیراً ثابت شده که می توان با استفاده از فناوری نانو علاوه بر کاهش عوارض جانبی، کارایی درمان را نیز افزایش داد. هدف از این تحقیق تهیه نانو ذرات نیوزومی و لیپوزومی حاوی پاکلی تاکسل و بررسی اثرسایتوتوکسیک آن بر روی رده سلولی سرطان پستان می باشد.

مواد و روش ها: پاکلی تاکسل به روش تزریق اتر نانونیوزومه و نانولیپوزومه و پگیله گردید. برای تهیه پاکلی تاکسل نانونیوزومه نسبت های مشخصی از Span ۶۰ ، کلسترول، پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ دالتون و پاکلی تاکسل را با یکدیگر مخلوط نمودیم. برای تهیه پاکلی تاکسل نانولیپوزومه نسبت های مشخصی از فسفاتیدیل کولین، کلسترول و پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ دالتون و پاکلی تاکسل را با یکدیگر مخلوط نمودیم. همچنین از روش کیسه دیالیز و آزمون MTT به ترتیب برای بررسی رهش و سمیت فرمولاسیون های تولید شده استفاده گردید.

یافته ها: ما توانستیم میزان کپسولاسیون داروی پاکلی تاکسل در نانوذره نیوزومی را به میزان چشمگیری نسبت به نانوذره لیپوزومی افزایش دهیم. میانگین قطر پاکلی تاکسل نانونیوزومه نسبت به نانونیوزومه بدست آمده کوچکتر می باشد. در هر دو فرمولاسیون میزان بارگذاری در حد چشمگیری بالا بود. با استفاده از روش دیالیز میزان رهایش دارو طی ۴۸ ساعت در فرمولاسیون پاکلی تاکسل نانونیوزومه و نانولیپوزومه بررسی شد. این بررسی نشان داد که اثر سایتوتوکسیسیتی پاکلی تاکسل نانونیوزومه و نانولیپوزومه نسبت به فرم استاندارد آن بیشتر است.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد فرمولاسیون نیوزومی تولید شده از پاکلی تاکسل نسبت به لیپوزومی کارایی بهتری دارد و جدای از نوع نانوحامل، هر دو فرمولاسیون این قابلیت را دارند که در آزمایش های in-vivo و سرانجام بالین مورد بررسی قرار گیرند.

کلمات کلیدی: نیوزومه کردن، لیپوزومه کردن، پاکلی تاکسل، نانودارورسانی، سرطان سینه.

مقدمه

سرطان یکی از بزرگترین چالش های مربوط به سلامتی است که بشر در نقاط مختلف جهان با آن دست به گریبان است (۸). سرطان سینه شایع ترین نوع سرطان در بین زنان است (۱۸).

آدرس نویسنده مسئول : گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، شاهرود، ایران
Email :mohammad_z6369@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۹/۱
تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱۱

Archive of SID
www.SID.ir

بطوریکه بروز آن در زنان بیشتر از ۵۰ سال، حدود ۷۷٪ است (۱۵). در میان زنان سراسر دنیا سرطان پستان با یک میلیون ابتلا در سال شایع ترین سرطان و شایع ترین علت مرگ ناشی از سرطان تخمین زده می شود و ۱۸٪ از کل سرطان های زنان را شامل می گردد (۱۰). از روش های درمانی رایج برای درمان سرطان سینه می توان به جراحی، پرتودرمانی و شیمی درمانی اشاره کرد (۸). امروزه برای کاهش عوارض جانبی و افزایش کارایی عوامل شیمی درمانی از تکنولوژیهای جدید استفاده می شود. از جمله این روشهای نوین استفاده از نانوفناوری در حیطه پزشکی میباشد که هم برای تشخیص و هم درمان استفاده می شود (۱۱). یکی از داروهای مورد استفاده در درمان سرطان سینه، پاکلی تاکسل می باشد. این دارو در درمان سرطان های تخمدان، سینه، سر و گردن و سلول های غیر کوچک ریه (non-small cell lung cancer) مورد استفاده قرار می گیرد (۷و۱۶). پاکلی تاکسل از خانواده ی تاکسانها می باشد. با وجود اثر درمانی داروی پاکلی تاکسل، شیمی درمانی این دارو دو مشکل عمده را به همراه دارد که یکی مسیر پاکسازی آن از خون و دیگری مقاومت تومور به دارو است (۱۲). نانوذرات نیوزومی و لیپوزومی دو نانوحاملی هستند که می توانند برای بهبود اثر درمانی و کاهش عوارض جانبی پاکلی تاکسل مورد استفاده قرار گیرند. حامل های تزریقی در مقیاس نانو با هدف عبور از موانع زیستی، حفاظت از دارو و رها کردن میزان بهینه دارو استفاده می شوند. پیشرفت های اخیر در نانوفناوری این امکان را به وجود آورده که بتوان بطور دقیق بیماریهای حیوانی و انسانی را هدف قرار داد و در عین حال از عوارض جانبی داروها نیز کاست (۱۱). نیوزومها وزیکولهای سورفاکتانت غیر یونی هستند که در اثر هیدراتاسیون سورفاکتانت های غیر یونی مرکب یا بدون اختلاط کلسترول و دیگر چربی ها تشکیل می گردند. سیستم وزیکولی آنها می تواند به عنوان حامل داروهای چربی دوست و آمفیفیلیک استفاده شود. غیر یونی بودن آن باعث سمیت کمتر و شاخص درمانی بهتر دارو به واسطه محدود کردن واکنش نیوزوم با سلول هدف می شود (۱۴). لیپوزوم ها وزیکول های دولایه ای فسفولیپیدی و متحدالمرکزی هستندکه دارای دو ناحیه آبدوست و آبگریز می باشند. داروهای آبدوست در محفظه ی آبی و داروهای آبگریز و دوگانه دوست در ساختار دولایه ای فسفولیپید قرار می گیرند (۴). لیپوزومها و نیوزومهای کپسوله شده مناسب در invitro و invivo در سال ۲۰۰۰ توسط Kamath و همکاران بر روی سیستم دارورسانی ریفامپین انجام پذیرفت(۹). هدف از این مطالعه تهیه نانو ذرات نیوزومی و لیپوزومی حاوی پاکلی تاکسل به منظور کاهش عوارض جانبی و افزایش کارایی درمان به همراه بررسی اثر سایتوتوکسیک آن بر روی رده سلولی سرطان پستان می باشد.

مواد و روش ها

سورفکتانت غیر یونی(Span ۶۰) ، فسفاتیدیل کولین، کلسترول، پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ دالتون، پاکلی تاکسل و محلول MTT (۵mg/ml) از شرکت سیگما خریداری شد. اتانول و ایزوپروپانول و دی اتیل اتر از شرکت مرک و محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ از شرکت Invitrogen خریداری و همچنین رده سلولی MCF-۷ از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید.

جدول-۱: ترکیب سورفاکتانت، فسفاتیدیل کولین، کلسترول و پلی اتیلن گلیکول برای تهیه نیوزوم ها و لیپوزومها

NO	Code	Drug/ Surfactant/ Cholesterol ratio	Drug/ Phosphatidylinositol choline /Cholesterol ratio	Phosphatidylinositol choline (mg)	Drug (mg)	Surfactant (mg)	Cholesterol (mg)	PEG 2000 (mg)
1	NI-1	1:5:1	…….	……..	40	200	40	20
2	NI-2	1:5:1	…….	……..	40	200	40	.....
3	LI-1	……..	1:5:1	200	40	…….	40	20
4	LI-2	……..	1:5:1	200	40	…….	40	.....

ساخت نانوذره و کپسولاسیون دارو:

ساخت نانونیوزوم، کپسولاسیون و پگیله کردن دارو به روش تزریق اتر:

نیوزومهای حاوی پاکلی تاکسل به کمک سورفاکتانت غیریونی (span۶۰) و کلسترول در غلظت های مشخصی تهیه گردید (جدول-۱). کلسترول و سورفاکتانت در ۱۰ میلی لیتر دی اتیل اتر حل شد. سپس ۲ میلی لیتر اتانول ۹۸٪ حاوی ۴۰ میلی گرم

Archive of SID

www.SID.ir

پاکلی تاکسل به آن اضافه گردید و با کمک همزن مغناطیسی به هم زده شد (۳۰۰rpm, ۳۰ min, room temperature). محلول بدست آمده به آرامی (با سرعت یک میلی لیتر در دقیقه) به کمک یک میکروسرنگ با سرسوزن G۱۴بداخل ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات نمکی (pH ۷.۴) تزریق گشت. این محلول بر روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۵-۶۰ درجه سانتیگراد به مدت زمان ۵۵ دقیقه و سرعت ۳۰۰ دور بر دقیقه بهم زده شد(در حین تزریق). هنگامیکه محلول لیپیدی به آرامی بداخل فاز آبی تزریق می شود، تفاوت در دمای بین فازها سبب تبخیر سریع اتر شده و در نتیجه موجب وزیکولاسیون خودبخودی و تشکیل نیوزوم می گردد. برای تهیه پاکلی تاکسل نیوزومه پگیله همان روش بالا دنبال می شود با این تفاوت که به مواد فوق در همان ابتدای کار، PEG-۲۰۰۰ نیز اضافه گردید.

ساخت نانولیپوزوم و کپسولاسیون دارو:

لیپوزومهای حاوی پاکلی تاکسل با کمک فسفاتیدیل کولین و کلسترول در غلظت مشخصی تهیه گردید (به نسبت ۵:۱) (جدول-۱). فسفاتیدیل کولین و کلسترول در ۱۰ میلی لیتر دی اتیل اتر حل شد. سپس ۲ میلی لیتر اتانول ۹۸٪ حاوی ۴۰ میلی گرم پاکلی تاکسل به آن اضافه گردید و با کمک همزن مغناطیسی به هم زده شد (۳۰۰rpm, ۳۰ min, room temperature) تا سوسپانسیون شفاف و زرد رنگ شود. محلول بدست آمده به آرامی (با سرعت یک میلی لیتر در دقیقه).به کمک یک میکروسرنگ با سرسوزن G ۱۴ بداخل۱۰ میلی لیتر بافر فسفات نمکی (pH ۷.۴) تزریق گشت. این محلول بر روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۵-۶۰ درجه سانتیگراد به مدت زمان ۶۵ دقیقه و سرعت ۳۰۰ دور بر دقیقه بهم زده شد(در حین تزریق). هنگامیکه محلول لیپیدی به آرامی بداخل فاز آبی تزریق می شود، تفاوت در دمای بین فازها سبب تبخیر سریع اتر شده و در نتیجه موجب وزیکولاسیون خودبخودی و تشکیل لیپوزوم می گردد. برای تهیه پاکلی تاکسل لیپوزومه پگیله همان روش بالا دنبال می شود با این تفاوت که به مواد فوق در همان ابتدای کار، PEG-۲۰۰۰ نیز اضافه گردید.

همگن کردن وزیکول ها

در این مرحله محلول ها را به مدت ۵ دقیقه با فرکانس ۶۰ هرتز در دمای محیط، درون دستگاه سونیکاتور (BandelinSonorexDigitec, Germany) قرار دادیم تا وزیکول های کوچک تر و نسبتاً همگن تر تهیه شوند.

تعیین اندازه نانو نیوزوم ها و نانو لیپوزوم ها

با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Zen ۳۶۰۰; Malvern Instruments Ltd, Malvern Worcestershire, UK) میانگین قطر نیوزوم ها و لیپوزومها سنجیده شد. به این صورت که مقدار ۲ میلی لیتر از هر فرمولاسیون را به طور جداگانه برداشته و میزان جذب آنها را به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده سپس با استفاده از دستگاه زتا سایزر میانگین قطر نانوذرات را بدست می آوریم.

بازده کپسولاسیون نیوزومها ولیپوزومها

برای بررسی مقدار داروی کپسوله شده، مقدار ۲ میلی لیتر (۴mg/ml) ازسوسپانسیون های حاوی نانوذره با سرعت ۱۳۰۰۰rpm به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد و سوپرناتانت های مربوطه جدا گردید. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV – ۱۶۰۱PC شرکت SHIMADZU) جذب نوری سوپرناتانت هر یک از فرمولاسیون ها در طول موج ۲۲۷ نانومتر سنجیده شد. پس از آن با استفاده از فرمول زیر، میزان کپسولاسیون محاسبه گردید.

فرمول ۱ : Entrapment Efficiency ٪ = amount of encapsulated drug/total drug ×۱۰۰

جهت رسم منحنی استاندارد، غلظت های متفاوتی از پاکلی تاکسل تهیه و مقدار جذب با روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۲۲۷ نانومتر سنجیده شد.

مطالعه رهایش دارو

میزان رهاسازی پاکلی تاکسل از نیوزوم و لیپوزوم با تکنیک انتشار غشایی مشخص گردید. سوسپانسیون نیوزومی و لیپوزومی معادل ۸ میلی گرم پاکلی تاکسل، در یک کیسه دیالیز (cut off ۱۲۰۰۰Da, sigma) ریخته شد. کیسه دیالیز در

Archive of SID

www.SID.ir

یک ظرف محتوی ۲۰ میلی لیتر بافر فسفات نمکی (pH ۷.۴) غوطه ور و بر روی هم زن مغناطیسی (۳۷ °C, ۱۰۰ rpm) قرار داده شد. در فواصل زمانی ۵، ۷، ۹، ۲۱، ۲۴، ۲۷، ۳۰، ۴۸ ساعت ۲ میلی لیتر از بافر فسفات برداشته با حجم برابر از بافر فسفات تازه جایگزین می شود. جذب نوری نمونه ها بصورت جداگانه در طول موج ۲۲۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-VIS اندازه گیری گردید و سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت داروی آزاد شده در هر زمان محاسبه شد. در نهایت نمودار رهایش دارو بر حسب زمان ترسیم گردید.

بررسی سایتوتوکسیسیتی سلولی

میزان سایتوتوکسیسیتی فرمولاسیون های مختلف بر روی سلولهای MCF-۷ با استفاده از آزمون MTT بررسی گردید. سلولها در رقت ۱۰۴×۱ به ازاء هر چاهک پلیت ۹۶ خانه، در محیط DMEM حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و ۱٪ آنتی بیوتیک پنی سیلین/ استرپتومایسین تحت شرایط ۵٪ دی اکسید کربن و دمای ۳۷ درجه کشت داده شدند. ۲۴ ساعت پس از کشت سلول ها و چسبیدن آنها، محیط رویی بیرون ریخته شد و سلول ها با فرمولاسیون های دارویی مختلف حاصل از هر دو روش سنتز، در غلظت های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲، ۳۱، ۱۵ و ۸ ماکرومولار تیمار شدند. ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون، محیطهای حاوی فرمولاسیونهای دارویی برداشته و ۱۰۰ ماکرولیتر از محلول MTT (۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر PBS با pH برابر با ۷/۴) به هر چاهک اضافه شد و به مدت سه ساعت انکوباسیون صورت گرفت. سپس محلول MTT برداشته و جهت حل شدن کریستالهای فورمازان تشکیل شده، ۲۰۰ ماکرولیتر ایزوپروپانول به هر چاهک اضافه و به هم زده شد. در مرحله بعد میزان جذب در ۵۷۰ نانومتر بوسیله دستگاه الایزا ریدر (BioTek Instruments, VT, U.S.A.) خوانده شد. آزمایشات بصورت سه تایی و سه بار تکرار شد. زیست پذیری سلولی از نسبت جذب سلولهای تیمارشده با فرمولاسیونهای مختلف دارو، به جذب سلولهای کنترل به دست آمد و نتایج حاصل با استفاده از برنامه pharm بررسی گردید. میزان غلظتی که باعث مرگ ۵۰ ٪ سلولها می گردد با توجه به نتایج حاصل برای هر کدام از نمونه ها گزارش شد.

نتایج

تعیین اندازه نانونیوزوم ها و نانولیپوزومها

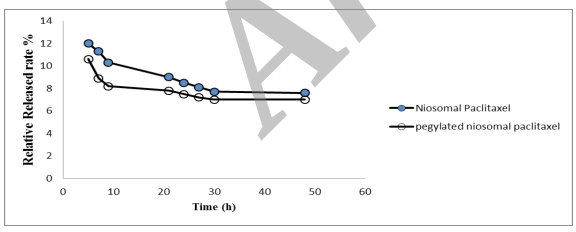
میانگین قطر نیوزوم ها برای نانوذره حاوی دارو در دو شکل ساده و پگیله به ترتیب ۲۱۱/۵ و ۱۴۶/۹ نانومتر و میانگین قطر لیپووزوم ها برای نانوذره حاوی دارو در دو شکل ساده و پگیله به ترتیب ۴۱۰/۷ و ۳۶۱/۳ نانومتر بدست آمد.

بازده کپسولاسیون

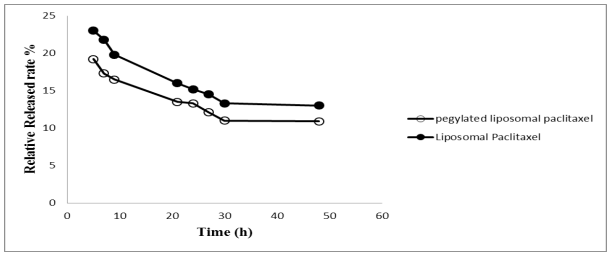
بازده کپسولاسیون با توجه به منحنی استاندارد پاکلی تاکسل برای هر نمونه محاسبه شد. درصد داروی کپسوله شده برای فرمولاسیون ساده و پگیله ی نیوزومی به ترتیب ۹۶/۳ و ۹۸/۹ درصد و برای فرمولاسیون ساده و پگیله ی لیپوزومی به ترتیب ۸۰/۴ و ۸۴/۷ درصد بدست آمد.

بررسی رهایش پاکلی تاکسل بصورت برون تنی (in vitro) :

مقدار پاکلی تاکسل آزاد شده از دو فرمولاسیون ساده و پگیله در بافر فسفات طی بازه های زمانی ۵، ۷، ۹، ۲۱، ۲۴، ۲۷، ۳۰، ۴۸ ساعت با استفاده از منحنی استاندارد پاکلی تاکسل به دست آمد. مقدار داروی آزادشده از فرمولاسیون های حاصل از لیپوزومها نیز، در همین فواصل زمانی محاسبه گردید (شکل-۲) که الگویی تقریباً شبیه به فرمولاسیون های حاصل از نیوزومها داشت (شکل-۱).



شکل-۱ منحنی حاصل از رهش دارو در دو فرمولاسیون نیوزومال ساده و پگیله



Archive of SID
www.SID.ir

شکل-۲ منحنی حاصل از رهش دارو در دو فرمولاسیون لیپوزومال ساده و پگیله

بررسی سایتوتوکسیسیتی سلولی

در ابتدا مشخص شد نانوذره فاقد دارو در غلظتهایی بالاتر از غلظت های حاوی دارو سمیتی برای سلول ندارد و بی خطر است. همچنین مشخص شد میزان سمیت دارو در فرمولاسیون های نیوزومی و لیپوزومی نسبت به داروی آزاد بیشتر است. اما به هرحال این افزایش در مورد فرمولاسیون های حاصل از نانونیوزومها نسبت به نانولیپوزومها بیشتر رخ داد بطوریکه مقادیر غلظتی که باعث مرگ ۵۰ ٪ سلولها می گردد برای فرمولاسیون های نانونیوزومال ساده و پگیله به ترتیب برابر با ۳۹ و ۱۶ ماکرومولار بدست آمد و این درحالی بود که این مقادیر برای فرمولاسیون های نانولیپوزومال ساده و پگیله به ترتیب ۵۹ و ۳۷ ماکرومولار محاسبه شد. لازم به ذکر است مقدار غلظتی که باعث مرگ ۵۰ ٪ سلولها می گردد برای داروی آزاد در زمان ۴۸ ساعت برابر با ۹۶ ماکرومولار بدست آمد.

بحث

دارورسانی یکی از چالش های اصلی بیوتکنولوژی دارویی است (۲). ثابت شده است که نانوحامل ها توانایی رساندن داروها به سلول های هدف را دارند. یکی از نانوحامل های لیپیدی، نیوزوم می باشد. Fang و همکارانش در سال ۲۰۰۱ اثر نیوزومها و لیپوزومها را در نفوذپذیری پوستی داروی enoxacin مشاهده کردند. آنها همچنین مشاهده کردند که گنجاندن کلسترول در enoxacin باعث پایداری دارو می شود (۵). در سال ۲۰۰۷، ژیوتا و همکاران داروی دوکسوربیسین محصور در لیپوزوم را در ترکیب با سیکلوفسفامید به عنوان خط اول درمان سرطان سینه مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق نتایج بدست آمده نشان دهنده ی افزایش سمیت سلولی داروی دوکسوربیسین محصور در لیپوزوم در مقایسه با شکل آزاد آن بود (۶). Mujoriya و همکارانش روی طراحی و تولید سیستم تحویل نیوزومی برای کیتوپروفن کار کردند، آنها به این نتیجه رسیدند که دارورسانی هدفمند به بافت هدف اثر درمانی داروی کیتوپروفن را افزایش می دهد و باعث کاهش اثرات نامطلوب آن بر روی بافتهای غیر هدف می شود(۱۳). در مطالعه ای دیگر Srinivas و همکارانش در سال ۲۰۱۰ بر روی تهیه و ارزیابی نیوزومهای حاوی آسیکلوفناک تحقیق کردند، آسیکلوفناک دارویی است که دارای خواص درمانی ضعیف و نیمه عمر زیستی کوتاه می باشد. هدف آنها از این مطالعه تولید و بهینه سازی فرمولاسیونی از آسیکلوفناک به منظور بهترکردن زیست دسترسی آن بود (۱۷). در سال ۲۰۱۲ Chang Chang Chi- و همکاران در پژوهش خود که اثر داروی کرکومینوئید (curcuminoid) لیپوزومه شده را بر روی رده های سلولی MCF-۷، MDA-MB-۴۳۵S و MDA-MB-۲۳۱ بررسی کردند، به این نتیجه رسیدند که مقدار غلظتی که باعث مرگ ۵۰ ٪ سلولها می گردد در داروی کرکومینوئید لیپوزومه شده از داروی لیپوزومه نشده کمتر است، بنابراین با لیپوزمه کردن این دارو، درصد بقاء سلول های سرطانی کاهش یافت (۱). در این مطالعه آنها اثر ترکیبات مختلف مانند سورفکتانت های غیریونی، فسفاتیدیل کولین و کلسترول را بر روی بازده کپسولاسیون، اندازه ذرات و آزادسازی یا رهش دارو مورد بررسی قرار دادند. همچنین آنها اثر فرمولاسیون لیپوزومی پاکلی تاکسل را بر روی رده ی سلولی MCF-۷ سرطان سینه مورد ارزیابی قرار دادند. آنها به این نتیجه رسیدند که در حضور این نوع از سورفاکتانت ها، زمان رهش دارو در تمام فرمولاسیونها افزایش می یابد، همچنین با افزایش غلظت سورفکتانت، بازده به دام انداختن دارو نیز افزایش می یابد (۱۷). در این مطالعه داروی پاکلی تاکسل را با استفاده از روش تزریق اتر بر روی نانوذرات نیوزومی و لیپوزومی بارگذاری کردیم و خواص هر دو را در محیط برون تنی مورد بررسی قرار دادیم. مشخص شد شکل نیوزومی پاکلی تاکسل دارای خواص مطلوب تری است از این نظر که اولاً اندازه کوچک تری داشت و ثانیاً میزان سمیت بیشتری اعمال می کند و دیگر اینکه میزان بارگذاری در شکل نیوزومی بیشتر از حالت لیپوزومی بود. همچنین از نظر رهش دارو، مشاهده گردید که شکل نیوزومی رهایش کندتری از دارو را نسبت به شکل لیپوزومی باعث می شود. در هر دو فرمولاسیون نیوزومی و لیپوزومی، اشکال ساده و پگیله نیز ساخته شدند که مشخص شد اثر پلی اتیلن گلیکول بر روی خواص نانوذرات اثری مثبت است. اگرچه به مانند مطالعه D. Cosco و همکارانش (۳)، افزایش میزان کپسولاسیون در حضور پلی اتیلن گلیکول

Archive of SID

www.SID.ir

مشاهده شد، اما سنجش های اندازه نانوذرات چیز دیگری را نشان داد، بدین صورت که در حضور پلی اتیلن گلیکول کاهش قابل ملاحظه اندازه در دو فرمولاسیون اتفاق افتاد. همچنین پگیلاسیون باعث بالاتر رفتن بازده کپسولاسیون دارویی در دو فرمولاسیون نانونیوزومی و نانولیپوزومی گردید، زیرا با فشرده تر شدن وزیکولها امکان رهایش دارو از جدار آن تاحدی کندتر شده و این پدیده باعث بالاتر رفتن بازده احتباس یا کپسولاسیون دارو در داخل آنها می گردد. در این راستا بررسی الگوی آزاد شدن دارو از نانونیوزومها و نانولیپوزومها نیز نشان دهنده نقش مثبت پگیلاسیون بود، بدین صورت که جدای از روش ساخت نانوذره، هر دو فرمولاسیون حاوی پلی اتیلن گلیکول زمان رهش پایین تری از دارو را نشان دادند. این پدیده را می توان به اثر پوششی و مهاری پلی اتیلن گلیکول بر روی رهاسازی دارو از نانوذره نسبت داد. همچنین در این مطالعه مشاهده شد که میزان کپسولاسیون دارو در هر دو فرمولاسیون در حضور پلی اتیلن گلیکول افزایش می یابد. این اثر می تواند از خاصیت انحلال پذیری پلی اتیلن گلیکول منشاء بگیرد که در حضور این سورفاکتانت انحلال پذیری داروی پاکلی تاکسل افزایش می یابد و همین امر باعث افزایش کپسولاسیون دارو می گردد. هرچند در آزمون MTT مشخص شد که میزان سایتوتوکسیسیتی شکل نیوزومی پاکلی تاکسل بیشتر از شکل لیپوزومی است اما به هرحال جدای از نوع نانوذره، هر دو فرمولاسیون نسبت به داروی آزاد سمیت بیشتری داشتند. برای توجیه این مسئله می توان گفت که فرمولاسیون نانونیوزومی و نانولیپوزومی پاکلی تاکسل به دلیل داشتن ساختارهای فسفولیپیدی مشابه با ساختار دولایه ای غشاء سلول MCF-۷ بهتر می توانند با این سلولها ارتباط برقرار کرده و با جوش خوردن غشاهای آنها با یکدیگر و آزاد سازی مستقیم دارو بداخل سلول هدف، باعث افزایش مرگ و میر این سلولها گردند. نکته دیگری که در این آزمون مشخص شد این بود که شکل پگیله هر دو فرمولاسیون نیوزومی و لیپوزومی نسبت به شکل غیرپگیله باعث سمیت بیشتری می شوند که این اثر را می توان به تاثیر پلی اتیلن گلیکول در افزایش کپسولاسیون و کاهش رهش دارو نسبت داد. در این مطالعه مشخص شد که نانوذره نیوزومی نسبت به لیپوزومی خواص بهتری نشان می دهد از این نظر که میزان بارگذاری بالاتر، سایتوتوکسیسیتی بیشتر و رهش تاخیری طولانی تری را نسبت به شکل لیپوزومی پاکلی تاکسل مشاهده کردیم. جدای از خواص دو نانوحامل، مشخص شد هر دوی آنها ترکیبات مناسبی برای داروی پاکلی تاکسل می باشند، چون که نسبت به داروی آزاد خواص بهتری نشان دادند. همچنین موفق شدیم از هر دو فرمولاسیون نیوزومی و لیپوزومی، اشکال ساده و پگیله تهیه کنیم که مشخص شد پلی اتیلن گلیکول به عنوان بخشی از ساختار فرمولاسیون ها اثری مثبت بر روی کارایی دارو اعمال می کند. در این مطالعه موفق شدیم با استفاده از نانوفناوری فرمولاسیون هایی از داروی پاکلی تاکسل تهیه کنیم که نسبت به داروی آزاد کارایی بیشتری داشتند و می توان استفاده از آنها را در آزمایشات درون تنی و بالینی مورد توجه قرار داد. در ضمن این فرمولاسیونها هیچ تأثیری منفی بر روی دیگر بافتهای (سلولهای سالم) بدن نمی گذارد.

سپاسگزاری:

تمامی هزینه های این پروژه بوسیله بخش پایلوت نانوبیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. این مطالعه حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد است که بدین وسیله از تمامی کسانی که در این زمینه زحمت کشیده اند قدردانی می گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1. Chi-Chang C ,Wei-Te Y ,Shun-Yao, K Yi-Chiang H," Liposomal curcuminoids for transdermal delivery: Iontophoresis potential for breast cancer chemotherapeutics", Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. (2012) Vol. 7, No. 1, p p. 59 – 71
2. Christiane G, Jörg W , Andreas Z, "Recombinant virus like particles as drug delivery system" Current Pharmaceutical Biotechnology. (2005) Vol. 6, pp 49-55.
3. Cosco D, Paolino D, Muzzalupo R, Celia C, Citraro R, Caponio D, Picci N, Fresta M, "Novel PEG-coated niosomes based on bola-surfactant as drug carriers for 5-fluorouracil", Biomed Microdevices. (2009)Vol. 11, pp1115–1125.
4. Dimitri K, John WP, Kellung H, "Structurally stabilized anti-HER2 immunoliposomes Design and targeting to human Breast cancer cells in vitro", Biochemistry. (1996) Vol. 36(1),PP 66-75.
5. Fang JY, Hong CT, Chiu WT, Wang YY, "Effect of Liposomes and niosomes on skin permeation of enoxacin", Int. J. Pharm. (2001) Vol. 219(1-2), PP 61-72.
6. Giotta1 F. Lorusso, V. Maiello, E. Filippelli, G. Valerio, M. R. Caruso, F. Liposomal encapsulated Doxorubicin plus cyclophosphamide as first-line therapy in metastatic breast cancer: a phase II multicentric study. Annals of Oncology; (2007) 18, vi66-69.
7. Harirchi I, Karbakhsh M, Kashefi A, Momtahen AJ, "Breast cancer in Iran: results of a multi-center study", Asian Pac J Cancer Prev. (2004) Vol. 5,PP 24 – 27.
8. Jianfeng G, Ludovic B, Declan M. S, Gerald C. O'Sullivan, Caitriona O'Driscoll, "Can non-viral technologies knockdown the barriers to siRNA delivery and achieve the next generation of cancer therapeutics?" Biotechnol Adv. (2011) Vol29(4),pp402-17.
9. Kamath MP, Shenoy BD,Tiwari SB, Karki R, Udupa N, KotianN, Indian J. Exp. Biol. DEVELOPMENT, EVALUATION AND COMPARISON OF NIOSOMES AND PRONIOSOMES LOADED WITH ANTITUBERCULAR DRUGS FOR DRUG RESISTANT-TB" (2000), 38(2), 113-118.
10. Key T, Verkasalo P, Banks E" Epidemiology of breast cancer", Lancet Oncol. (2001) Vol. 2,pp 133–140.
11. Mozafari MR" Nanocarrier Technologies: Frontiers of Nanotherapy (2006) vol237 ,PP 1-12.
12. Mozafari MR, Mortazavi SM. Eds. Nanoliposomes: From Fundamentals to Recent Developments. Trafford Pub. Ltd, Oxford, UK. 2005.
13. Mujoriya R, Babu Bodla R "Design and development of niosomal delivery system for Ketoprofen". (2012), htpp://hdl.net/123456789/97.
14. Pawar SD, Pawar RG, Kodag PP, Waghmare AS, Gadha ve MV, Jadha V, Sland Gaikwad DD,"Niosome, an unique drug delivery dystem", IJBPAS. (2012) Vol 1(3),pp 406-416.
15. Platek ME. American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2007-2008. Atlanta: American Cancer Society 2008, Inc.
16. Rezaianzadeh A, Peacock J, Reidpath D, Talei A, Hosseini SV, Mehrabani D," Survival analysis of 1148 women diagnosed with breast cancer in southern Iran", BMC Cancer. (2009) Vol. 9,pp 168.
17. Srinivas S, Anand KY, Hemanth A, Anitha A,"preparation and evaluation of niosomes containing aceclofenac", Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. (2010)Vol. 5(1); pp. 249 – 254.
18. Vo AT and Millis RM,"Epigenetics and breast cancers", Obstet Gynecol Int. 2012:602720. Epub 2012 Apr 10.DOI 10.101155/2012/602720.

Archive of SID

www.SID.ir