Archive of SID

بررسی اثرات سورفکتانتهای غیر یونی گروه پلی سوربات برغشا بیولوژیک با استفاده از مدل گلبول قرمز

*دکتر سیدابوالقاسم سجادی ، **دکتر محمد اصلان نانی رودی

*گروه فارماسوتیکس، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم داروئی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

**داروساز عمومی

تاریخ دریافت مقاله: ۸۲/۹/۷ ، تاریخ پذیرش مقاله: ۸۳/۴/۱۴

خلاصه

عوامل فعال سطحی (سورفکتانتها) از جمله پرمصرف ترین مواد جهت مصارف خانگی، صنعتی و داروسازی می باشند. در داروسازی از سورفکتانتها به عنوان ترکننده، حل کننده، پخش کننده، امولسیون کننده و سوسپانسیون کننده استفاده می‌شود. همچنین در سالهای اخیر از این ترکیبات به عنوان افزایش دهنده جذب مخاطی داروهای کم جذب شونده استفاده شده است. در مطالعه حاضر اثرات همولیتیک چهار سورفکتانت غیریونی از گروه پلی سوربات با نامهای تجارتی توئین ۲۰، توئین ۴۰، توئین ۶۰ و توئین ۸۰ بر گلبول قرمز انسانی به عنوان نشانه ای از تاثیر آنها بر غشاء بیولوژیک مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان داد که هر چهار سورفکتانت مورد بررسی با شدتهای مختلف باعث لیز گلبول قرمز شدند و حداکثر همولیز به ترتیب در غلظتهای ۱/۶، ۴۰، ۸۰ و ۸۰ میلی مول توسط توئینهای ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ دیده شد که نشان دهنده سمیت غشائی بسیار بالای توئین ۲۰ می باشد. درمورد کلیه توئین ها افزایش دما از ۲۵ به $37\ ^{\circ}C$ موجب افزایش همولیز گردید. افزایش زمان انکوباسیون نیز تاثیر مستقیمی بر همولیز نشان داد. همچنین مشخص شد که توئین ۸۰ در غلظت حدود ۲ میلی مول اثر حفاظتی بسیار موثری بر همولیز ناشی از توئین ۲۰ دارد به نحوی که میزان همولیز را از ۷۵٪ به حدود ۱٪ کاهش داد. کلیه نتایج با $P < ۰/۰۵$ توسط آزمون T-student-test مورد بررسی آماری قرار گرفت.

کلمات کلیدی: غشاء، همولیز، سورفکتانتهای غیریونی، پلی سوربات.

مقدمه

یکی از زمینه های مهم تحقیقات داروسازی در دهه های اخیر مطالعه بر روی دارو رسانی داروهای کم جذب شونده از طریق غشاهای مخاطی با استفاده از مواد جذب افزا (Absorption enhancers) بوده است و مواد فعال سطحی (سورفکتانتها) از جمله ترکیباتی هستند که اثرات جذب افزایی آنها در مطالعات چندی نشان داده شده است (۶). در عین حال یکی از ملاحظات اساسی در کاربرد سورفکتانتها به عنوان جذب افزا، نوع برهم کنش آنها با غشاهای بیولوژیک و به عبارت دیگر سمیت غشائی آنهاست (۸). کاربرد جذب افزاها بر روی غشاهای مخاطی مانند غشا روده یا بینی می تواند باعث وارد آمدن آسیب بر آنها شده و سبب ایجاد تغییر در عملکرد سدی آنها از جمله در برابر سموم میکروبی و باکتریهای پاتوژن موجود بر سطح مخاط شود، به همین خاطر تاکنون تعداد کمی از سورفکتانتها به عنوان جذب افزا مورد تائید واقع شده اند. به علاوه سمیت غشائی سورفکتانتها می تواند باعث محدود شدن استفاده از آنها در فرمولاسیون داروها به خصوص فراورده های تزریقی (به عنوان حل کننده یا Solubilizer) نیز بشود زیرا برخی از این ترکیبات در برخورد با سلولهای خونی باعث لیز شدن آنها شده و یا به سلولهای اندوتلیال دیواره عروق خونی آسیب می رسانند. با این وجود تعدادی از سورفکتانتها به نحو موفقیت آمیزی به عنوان امولسیون کننده و حل کننده (۹) یا جلوگیری از رسوب پس از تزریق داخل وریدی داروهایی مثل تاکسول (۱۰) و یا تنی پوزاید (۱۱) در فرمولاسیونهای داروئی وارد شده اند.

سورفکتانتهای غیر یونی گروه پلی اکسی اتیلن اتر (Brij series) اثرات جذب افزائی خوبی نشان داده اند (۱۴، ۱۵)

نویسنده مسئول: دکتر سید ابوالقاسم سجادی، تلفن: ۸۸۲۳۲۵۵-۰۵۱۱ ، نمابر: ۸۸۲۳۲۵۱-۰۵۱۱ E.mail: s- sajjadi@mums.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

هرچند که آنها نیز همانند بسیاری از املاح صفراوی سمیت غشائی بالائی داشته و در نتیجه مصرف آنها از نظر کلینیکی تایید نشده است. مدل های مختلفی برای بررسی سمیت غشائی مواد وجود دارند، از جمله مدلهای حیوانی که می توان آسیبهای وارده بر غشا مخاطی را به کمک میکروسکوپ الکترونی مشاهده نمود. یکی از مدلهای بسیار ساده برای مطالعه اثرات سمی مواد بر غشا سلولی، مدل گلبول قرمز می باشد که در مطالعات چندی مورد استفاده واقع شده است (۱۶، ۱۷). این مدل به طور مستقیم اثرات سمی بالقوه مواد را در استفاده تزریقی نشان می دهد ضمن اینکه می تواند نشانه ای از سمیت کلی غشائی نیز باشد. مزیت دیگر استفاده از مدل گلبول قرمز در دسترس بودن آسان خون و نیز روش ساده جداسازی گلبولهای قرمز از خون می باشد. در مطالعات قبلی اثرات همولیتیک سورفکتانتهای یونی (شامل کاتیونی و آنیونی) (۲۰، ۲۱) و نیز سورفکتانتهای غیر یونی نوع اتری (Brij) (۷، ۱۵، ۱۸) بررسی و گزارش شده است. سورفکتانتهای غیر یونی سری استرهای سوربیتان که تحت نام عمومی پلی سوربات و نام تجارتی توئین مشهوراند جزو سورفکتانتهای با سمیت کم محسوب شده و به نحو گسترده ای در داروسازی و فرمولاسیونهای داروئی و از جمله برخی داروهای تزریقی به کار می روند. با این وجود اثرات این گروه بر غشا بیولوژیک تاکنون مطالعه نشده است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات سمی چهار سورفکتانت گروه پلی سوربات شامل پلی سورباتهای ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ و نیز مخلوط دوتائی پلی سورباتهای ۲۰ و ۸۰ بر غشاء بیولوژیک با استفاده از مدل گلبول قرمز بود.

مواد و روش کار

پلی سوربات های ۲۰، ٤٠، ۶۰ و۸۰ از شرکت شیمیائی آلدریچ، سدیم کلراید، اسید سیتریک و سدیم دی هیدروژن اورتوفسفات ۲ هیدرات از شرکت شیمیائی BDH، محلول ۳۰٪ Brij 35 از شرکت Sigma و معرف دراب کین از شرکت تهیه و توزیع مواد شیمیائی واکرمن خریداری شدند. کلیه مواد از درجه آنالیتیکال بودند.

تهیه سوسپانسیون گلبول قرمز : عمل خون گیری از یک داوطلب سالم مرد انجام شده و نمونه خون بلافاصله به لوله حاوی هپارین منتقل گردید و به آرامی تکان داده شد تا از لخته شدن خون جلوگیری شود و لوله های حاوی خون درون یخ قرار گرفتند. حدود ۳-۲/۵ گرم از خون داخل لوله‌های سانتریفوژ درب دار، که قبلا توزین شده بودند، قرار داده شده و به کمک سانتریفوژ با شتاب ۲۲۰۰×g (Hermle Z 230 A, Germany) سانتریفوژ شدند و مایع روئی (پلاسما) و نیز پوشش سفید رنگ سطح گلبولهای قرمز دور ریخته شدند. گلبولهای قرمز ته نشین شده سه نوبت توسط بافر ایزوتونیک مک ایلوان با pH ۷ شستشو داده شدند. برای جلوگیری از لیز شدن تنشی گلبولهای قرمز دقت کافی در بهم زدن و افزودن بافر به عمل می‌آمد. در نهایت سوسپانسیون گلبول قرمز توسط بافر مزبور تا رسیدن به هماتوکریت حدود ۱۲٪ رقیق گردیده و تا زمان آزمایش در حرارت ۸-۲ °C نگهداری می شد. کلیه نمونه های خونی در روز آزمایش به صورت تازه تهیه گردیده و حداکثر زمان نگهداری آنها در یخچال ٢٤ ساعت بود.

تعیین میزان همولیز: به منظور بررسی میزان همولیز ناشی از هر سورفکتانت به تنهائی و همچنین مخلوط دو سورفکتانت توئین ۲۰ و ۸۰ مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون خونی با هماتوکریت حدود ۱۲٪ با حجم های لازم از محلول استوک هر یک از سورفکتانتهای مورد آزمایش و بافر ایزوتونیک درون میکروتیوبهای پلاستیکی درب دار مخلوط گردید بنحوی که یک سری غلظتی از هر سورفکتانت تهیه شد. این میکروتیوبها در دمای ۳۷ °C و برای مدت ۱۵، ۳۰ یا ۴۵ دقیقه نگهداری گردیدند.

در پایان مدت نگهداری، میکروتیوبها به مدت ۱۵ ثانیه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به کمک میکروسانتریفوژ (Hettich, Micro Rapid)، سانتریفوژ گردیدند. سپس مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از مایع روئی را در مجاورت ۳ میلی لیتر معرف دراب کین به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده و در پایان جذب نمونه ها درطول موج ۵۴۰ nm و در برابر بلانک (محلول بافر) خوانده شد. محلولهای شاهد مثبت و منفی شامل ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون خونی و ۲۰۰ میکرولیتر بافر نیز تهیه گردیدند که در پایان زمان نگهداری در شرایط یکسان با نمونه شاهد منفی سانتریفوژ گردید ولی نمونه های شاهد مثبت سانتریفوژ نشدند. در نمونه های حاوی شاهد مثبت ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون خونی با ۳ میلی لیتر معرف دراب کین، برای ایجاد همولیز کامل، مجاور گردید. برای به دست آوردن درصد همولیز هر نمونه، میزان جذب آن نمونه بر میزان جذب شاهد مثبت تقسیم و در ۱۰۰ ضرب گردید. از هر غلظت سه نمونه تهیه شده و هر آزمایش نیز ۳ نوبت تکرار می‌گردید و در نهایت میانگین به علاوه منهای انحراف معیار به عنوان نتیجه گزارش می گردید(٤).

نتایج

نتایج حاصل از انجام آزمایشات بررسی میزان همولیز به صورت میانگین درصد همولیز در برابر غلظت نشان داده شده است. هر

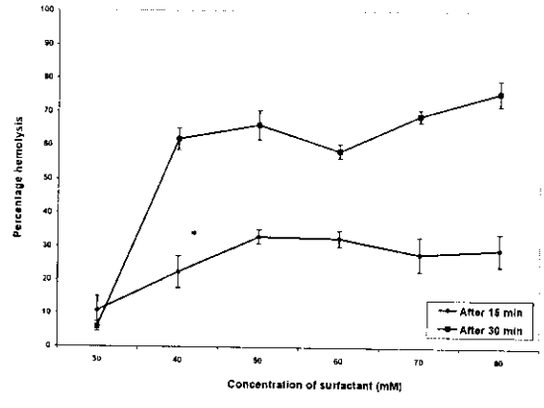
www.SID.ir

Archive of SID

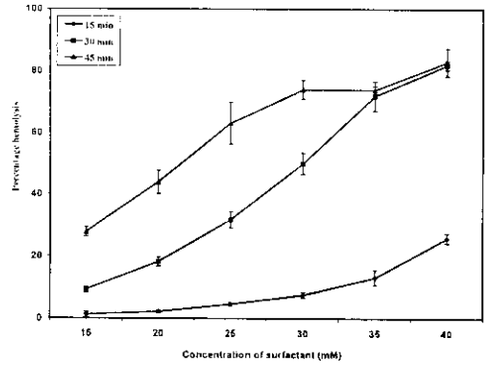
آزمایش حداقل سه بار تکرار شده و در هر مرتبه سه نمونه مورد آزمایش قرار گرفت (n=۹). از آزمون T-student test جفت شده برنامه آماری Sigma Plot با P <۰/۰۵ جهت محاسبات آماری استفاده گردید.

نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ درصدهای همولیز ایجاد شده در برابر غلظت را به ترتیب برای پلی سورباتهای ۸۰، ۶۰، ۴۰ و ۲۰ در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد و زمانهای انکوباسیون ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه (برای پلی سوربات ۸۰ فقط ۱۵ و ۳۰ دقیقه) نشان می دهند. همانگونه که از نمودارها پیدا است محدوده غلظتی همولیز دهنده در مورد پلی سورباتهای ۶۰ و ۸۰ در مقایسه با پلی سورباتهای ۴۰ و ۲۰ بزرگتر است. همچنین کمترین محدوده غلظتی همولیز دهنده مربوط به پلی سوربات ۲۰ می باشد. به منظور مقایسه بهتر این چهار سورفکتانت، غلظت میلی مولاری ایجاد کننده ۵۰٪ همولیز در دمای ۳۷ درجه محاسبه گردید که در نمودار ۵ نشان داده شده است. همانگونه که در این نمودار پیدا است این غلظت برای پلی سوربات ۲۰ در حدود ۱/۲ mM ، برای پلی سوربات ۴۰ حدود ۲۰ mM ، برای پلی سوربات ۸۰ حدود ۳۰mM و برای پلی سوربات ۶۰ بیش از ۷۰ mM می باشد که بر این اساس چهار سورفکتانت بالا را از نقطه نظر اثرات همولیتیک و سمیت غشائی می توان به ترتیب زیر رتبه بندی کرد:

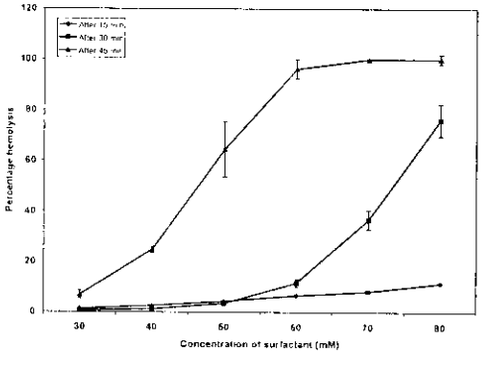
Tween 20> Tween 80> Tween 40> Tween 60
(12C/20EO) (18:1C/20EO) (16C/20EO) (18C/20EO)



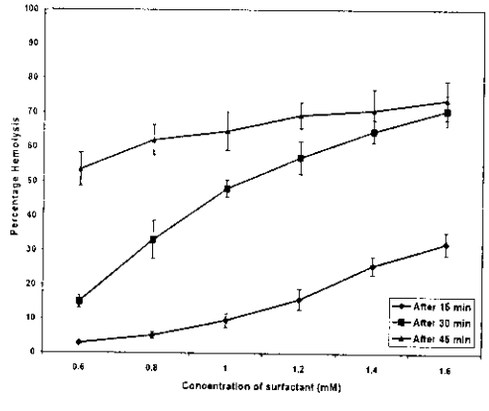
نمودار ۱: بررسی اثرات همولیتیک غلظتهای مختلف پلی سوربات (تونین) ۸۰ بر روی گلبول قرمز انسانی در دمای ۳۷°C با دو زمان انکوباسیون ۱۵ و ۳۰ دقیقه در محیط بافر ایزوتونیک (pH ۷). هر نقطه میانگین ۹ بار تکرار بوده و خطوط عمودی معرف انحراف معیار می باشند.



نمودار ۲: بررسی اثرات همولیتیک غلظتهای مختلف پلی سوربات (تونین) ۶۰ بر روی گلبول قرمز انسانی در دمای ۳۷°C با سه زمان ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه انکوباسیون در محیط بافر ایزوتونیک (pH ۷). هر نقطه میانگین ۹ بار تکرار بوده و خطوط عمودی معرف انحراف معیار می باشند که در بعضی از نقاط به دلیل کوچک بودن درون نشانه ها محو شده اند.



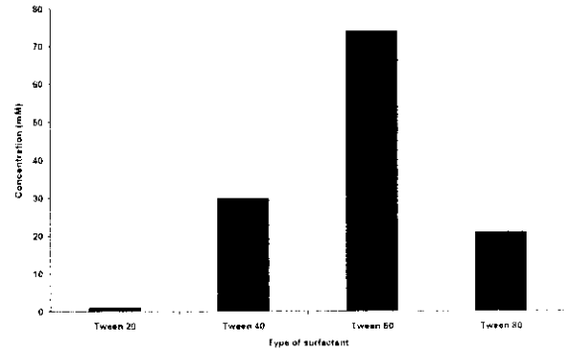
نمودار ۳: بررسی اثرات همولیتیک غلظتهای مختلف پلی سوربات (تونین) ۴۰ برروی گلبول قرمز انسانی در دمای ۳۷°C با سه زمان ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه انکوباسیون در محیط بافر ایزوتونیک (pH ۷). هر نقطه میانگین ۹ بار تکرار بوده و خطوط عمودی معرف انحراف معیار می باشند.



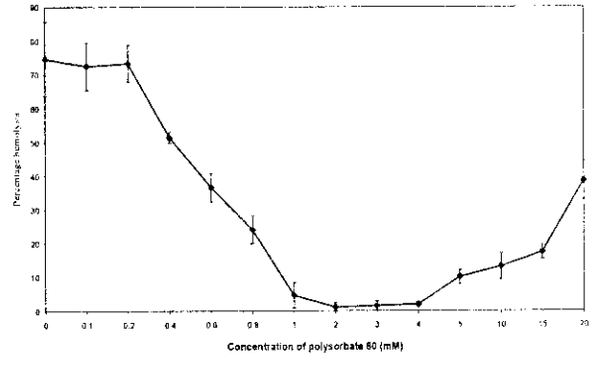
نمودار ۴: بررسی اثرات همولیتیک غلظتهای مختلف پلی سوربات (تونین) ۲۰ برروی گلبول قرمز انسانی در دمای ۳۷°C با سه زمان انکوباسیون ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه در محیط بافر ایزوتونیک (pH ۷). هر نقطه میانگین ۹ بار تکرار بوده و خطوط عمودی معرف انحراف معیار می باشند.

www.SID.ir

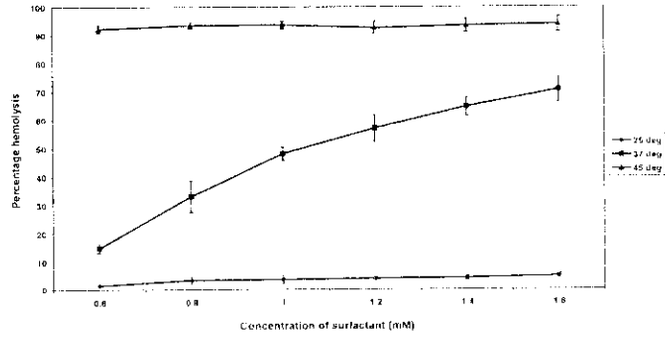
Archive of SID



نمودار ۵ : مقایسه پلی سورباتهای ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ برحسب غلظت میلی مولار جهت ایجاد ۵۰٪ همولیز برروی گلبول قرمز انسانی درحرارت ۳۷°C و زمان انکوباسیون ۳۰ دقیقه در محیط بافر ایزوتونیک (pH ۷).



نمودار ۶: بررسی اثر محافظتی توئین ۸۰ برروی گلبول قرمز انسانی در حضور غلظت ثابتی از توئین ۲۰ که به تنهائی حدود ۷۰٪ همولیز داشته است در دمای ۳۷°C و زمان انکوباسیون ۳۰ دقیقه در محیط بافر ایزو تونیک (pH ۷) . هر نقطه میانگین ۹ بار تکرار بوده و خطوط عمودی معرف انحراف معیار می باشند.



نمودار۷: بررسی تاثیر درجه حرارت بر همولیز ناشی از غلظتهای مختلف پلی سورباتِ ۲۰ در محیط بافر ایزوتونیک (pH ۷) و زمان انکوباسیون ۳۰ دقیقه. هر نقطه میانگین ۹ بار تکرار بوده و خطوط عمودی معرف انحراف معیار می باشند که در بعضی از نقاط به دلیل کوچک بودن درون نشانه ها محو شده اند.

بحث

از این داده ها چنین می توان نتیجه گیری کرد که سه سورفکتانت اول اثرات همولیتیک و به تبع آن سمیت غشائی کمتری نسبت به پلی سوربات ۲۰ داشته و پلی سوربات ۲۰ دارای اثرات تخریب غشائی به مراتب شدیدتر نسبت به سه عضو دیگر این گروه می باشد. چهار سورفکتانت مورد مطالعه از نظر بخش قطبی ملکولشان یعنی تعداد گروه های اکسی اتیلن (EO) با هم یکسان هستند و همگی حاوی ۲۰ گروه اکسی اتیلن می باشند و تفاوت آنها در قسمت غیرقطبی مولکول یعنی تعداد کربن زنجیره های اسید چرب است. هرچه برطول زنجیر هیدروکربنی ملکول افزوده شود علیرغم افزایش حلالیت درچربی و نفوذ راحت تر در دو لایه چربی غشاء میزان همولیز کاهش می یابد. این امر را احتمالاً می توان به کاهش حلالیت در آب با افزوده شدن بر تعداد گروههای هیدروفوب ملکول و در نتیجه کم شدن غلظت مونومری سورفکتانت درمحلول مائی و همچنین بزرگ شدن حجم ملکول نسبت داد. نتیجه دیگری که از این تحقیق گرفته می شود نقش پیوند دوگانه است که توئین ۸۰ با داشتن یک پیوند دوگانه با وجود اینکه دارای ۱۸ کربن در زنجیره هیدروکربنی خود می باشد، اثرات همولیتیک بیشتری از توئین ۶۰ با تعداد کربن مساوی و حتی توئین ۴۰ با دو کربن کمتر (۱۶ کربن) از خود نشان داد که می‌تواند مربوط به انحراف مولکول از حالت خطی در محل پیوند دوگانه و افزایش توان ایجاد گسستگی در غشاء باشد (۳). همچنین از نمودار ۱ این گونه پیدا است که در مورد پلی‌سوربات ۸۰ بعد از غلظت ۵۰mM همولیز تا حدودی کاهش یافت که البته این میزان کاهش از نظر آماری معنی دار نبود ($p< ۰/۰۵$).

در مطالعه ای که توسط والترز و همکارانش بر روی افزایش جذب خوراکی پاراکوت دی کلراید در خرگوش درحضور سورفکتانت های غیریونی گروه پلی اکسی اتیلن اتر انجام شد، نتایج زیر به دست آمده است:

12C/ EO-12>18:1C/EO-12>16C/EO-12> 18C/EO-12

همانگونه که پیداست اولاً زنجیره ۱۲ کربنی از همه موثرتر بوده و ثانیاً زنجیره ۱۸ کربنی حاوی یک پیوند دوگانه از ۱۸ کربنی بدون پیوند دوگانه تاثیر بیشتری داشته است که مؤید نتایج حاصل از تحقیق حاضر می باشد. محققین فوق این امر را به

www.SID.ir

Archive of SID

ویژگی زنجیره ۱۲ کربنه و حلالیت متوسط آن ما بین آب و روغن و اندازه مناسب مولکول نسبت دادند (۱۲).

در مطالعه دیگری که برروی اثرات همولیتیک یک سری هومولوگ از سورفکتانتهای غیر یونی گروه پلی اکسی اتیلن اتر انجام گردید مشاهده شد که کاهش طول زنجیره هیدروکربنی از C18 به C16 منجر به افزایش اثرات همولیتیک گردید ولی سورفکتانت دارای زنجیره C12 – 10 (polyoxyethylene lauryl ether) اثرات همولیتیک کمتری نشان داد (۷). علت تفاوت در نتایج تحقیق حاضر با تحقیق بالا را می توان مربوط به نوع سورفکتانت و همچنین تفاوت در تعداد گروههای اکسی اتیلن دانست، که در تحقیق حاضر سورفکتانت از نوع استر سوربیتان با ۲۰ گروه اکسی اتیلن (پلی سوربات ۲۰) ولی در تحقیق بالا از نوع اتری با ۱۰ گروه اکسی اتیلن (۱۰ لوریل اتر) بوده است. در عین حال تحقیقات متعدد دیگری نیز مبنی بر موثرتر بودن زنجیره C12 وجود دارند (۱۲، ۱۷، ۱۸). همچنین در مطالعه اثرات همولیتیک سورفکتانتهای آنیونی نیز مشاهده شده که سدیم لوریل سولفات (با ۱۲کربن) به مراتب اثرات همولیتیک بیشتری از دی اکتیل سدیم سولفوسوکسینات (با ۲۰ کربن) دارد (۱۶).

نمودار۶ اثرات همولیتیک مخلوطهای دوتائی از پلی سورباتهای ۲۰ و ۸۰ را نشان می دهد. در این بررسی غلظت ثابتی از پلی سوربات ۲۰ که در آزمایشات قبلی حدود ۸۰٪ همولیز ایجاد کرده بود، با غلظتهای مختلفی از پلی سوربات ۸۰ مجاور شده و اثرات همولیتیک این مخلوطهای دوتائی بررسی گردیده و سپس درصدهای همولیز ایجاد شده در برابر غلظت پلی سوربات ۸۰ رسم گردید. همان گونه که نمودار نشان می دهد در حضور غلظتهای پائین از پلی سوربات ۸۰، که خود به تنهائی در آزمایشات قبلی هیچگونه همولیزی ایجاد نکرده بودند، اثرات همولیتیک پلی سوربات ۲۰ به نحو چشمگیری مهار شد به نحوی که در صد همولیز در حضور ۲ mM پلی سوربات ۸۰ از ۸۰٪ به حدود ۱٪ رسید ولی با افزایش غلظت پلی سوربات ۸۰ به بالای ۵ mM همولیز سیر صعودی پیدا کرده و در غلظت ۲۰ mM از پلی سوربات ۸۰ به حدود ۴۰٪ رسید. این اثر را می‌توان به تشکیل میسلهای مختلط از پلی سورباتهای ۲۰ و ۸۰ نسبت داد که در نتیجه آن ملکولهای پلی سوربات ۲۰ درون این سیستمهای میسلی محبوس گردیده و از مجاورت مستقیم با غشاء دور مانده است. این اثر همچنین در مطالعات قبلی در مورد بررسی تاثیر مخلوطهای دوتائی از لسیتین زرده تخم مرغ (یک فسفولیپید با اثرات کاهش دهنده کشش سطحی) با سورفکتانتهای غیر یونی نوع اتری (۷) و نیز نمکهای صفراوی (۱۹) گزارش شده است. در هر دو مورد فوق کاهش اثرات همولیتیک به تشکیل میسلهای مختلط نسبت داده شد. با توجه به نتایج حاصل و تست های آماری انجام گرفته توسط T- student test با $P < ۰/۰۵$ مشخص گردید که افزایش زمان انکوباسیون در مورد کلیه سورفکتانتهای مورد مطالعه موجب افزایش اثرات همولیتیک گردید.

هرچند که مکانیسم دقیق ایجاد همولیز توسط مواد فعال سطحی تاکنون به خوبی شناخته نشده است، در عین حال می تواند شامل فرایندهای ذیل باشد:

۱) جذب سطحی مولکولهای سورفکتانت بر سطح گلبول قرمز

۲) نفوذ مولکولهای سورفکتانت به داخل غشاء سلولی

۳) ایجاد تغییرات در ساختار غشاء سلولی

۴) افزایش نفوذپذیری غشاء سلولی

۵) افزایش تدریجی پدیده لیز اسموتیک و درنهایت تخریب دیواره سلولی و ایجاد همولیز

بر اساس مطالعات انجام شده دو اثر از سورفکتانت ها مشاهده می گردد: افزایش نفوذپذیری غشاء و لیز سلولی. سورفکتانتهایی که موجب همولیز می گردند غشاء سلولی را به هموگلوبین نفوذپذیر می کنند که این عمل در غلظتهای خاص سورفکتانت اتفاق می افتد. و در پایین تر از این مقدار اثرات همولیتیک مشاهده نمی شود. در این مرحله غشاء سلولی به مولکولهای با وزن کم نفوذپذیر می گردد و البته این درصورتی است که در محیط خارج سلولی ماکرو مولکولهایی که موجب لیز اسموتیک سلول گردند وجود نداشته باشند. تخریب حاصل از سورفکتانت نتیجه شکسته شدن غشاء به وسیله تغییرات ساختاری مولکولهای تشکیل دهنده غشاء سلولی می باشد. متعاقب این تغییرات نفوذپذیری غشاء سلولی به ماکرو مولکولها نیز همانند مولکولهای کوچک افزایش می یابد. این تغییر نفوذپذیری در یک سلول منفرد تحت پدیده همه یا هیچ اتفاق می افتد. این گونه سلولها به وسیله پدیده افزایش نفوذپذیری

www.SID.ir

Archive of SID

دچار همولیز آهسته می گردند. و بنابراین دو اثر افزایش نفوذپذیری غشاء سلولی و پدیده همولیز آهسته در شرایط pH =۷ کاملا مجزا از یکدیگر می باشند (۴).

میزان همولیز درطی مطالعه اثرات همولیتیک سورفکتانت ها به وسیله افزایش دما، افزایش یافت که این تاثیر برای پلی سوربات ۲۰ در نمودار ۷ مشاهده می شود. همانگونه که از نمودار پیداست غلظتهای به کار رفته در ۲۵ درجه همولیز ناچیزی ایجاد کرده اند در حالی که همین غلظتها در ۳۷ درجه در یک روند وابسته به غلظت باعث ایجاد همولیز شده اند و در ۴۵ درجه کلیه این غلظتها تقریباً همولیز کامل ایجاد نمودند. این امر در واقع به خواص فیزیکوشیمیایی غشاء بر می گردد چرا که فسفولیپیدهای تشکیل دهنده غشاء در دماهای بالای درجه حرارت انتقال (transition temperature) حالت مایع داشته و از سیالیت (fluidity) برخوردارند و در دماهای پایین تر از آن تبدیل به فرم ژل شده و درنتیجه نظم و استحکام غشا افزایش یافته و به موازات آن برمقاومت آن افزوده می شود و در نتیجه میزان همولیز کمتری مشاهده می شود (۷). همچنین در مورد تمام سورفکتانتهای مورد آزمایش افزایش زمان انکوباسیون باعث افزایش همولیز گردید. دلیل این امر آن است که افزایش زمان مجاورت، فرصت بیشتری برای ماده فراهم می نماید تا با غشا واکنش داده و اثر خود را اعمال نماید (۴).

References

1. Alkan-Onyuksel H., Chai H.B., Pezutto J. M., 1994, A mixed micellar formulation suitable for the parenteral administration of taxol. Pharm. Res., 11: 206-212.
2. Alkan-Onyuksel H., Son K., 1992. Mixed micelles as proliposomes for the solubilization of teniposide, Pharm. Res., 9: 1556-1562.
3. Bielawaski J., 1990, Two types of hemolytic activity of detergents, Biochim. Biophys. Acta. 1053: 2120-2147.
4. El-Hariri L. M., Marriott C., Martin G. P., 1992, The mitigation effects of phosphatidylcholines on bile salt- and lysophosphatidylcholine-induced membrane damage, J. Pharm. Pharmacol., 44: 123-129.
5. Florence A. T., Walters K. A., Dugard P., 1978, Biological activity of some commercial polyoxyethylene ethers in the goldfish, J. Pharm. Pharmacol. 30: 29.
6. Gould L.A., 1996, Some factors influencing the effect of surface active agents on membrane, Ph.D. Thesis, Department of Pharmacy, King's College London, University of London, England.
7. Gould L. A., Lansley A. B., Brown M. B., Forbes B., Martin G.P., 2000, Mitigation of surfactant erythrocyte toxicity by egg phosphatidylcholine, J. Pharm. Pharmacol., 52: 1203-1209.
8. Gould L. A., Lawrence M. J., Lansley A. B., Martin G. P., 1997, Membrane disruption induced by phospholipid and surfactants mixed aggregates, the influence of particle size and aggregate type. J. Pharm. Pharmacol., 49: 45.
9. Helenius A., Simons K., 1975, Solubilization of membranes by detergents, Biochim. Biophys. Acta., 415: 29-79.
10. Hirai S., Yashiki T., Matsuzawa T., Mima H., 1981, Mechanism for the enhancement of the nasal absorption of insulin by surfactants, Int. J. Pharm., 9: 173-184.
11. Moghimipour E., Sajadi Tabassi S.A., Ramazani M., Loebenberg R., 2002, Enhanced permeability of gentamicin sulfate through snake skin and liposomal membranes by different enhancers, Ir. J. Basic Med. Sci., 6(1): 9-19.
12. Muranishi S., 1990, Absorption enhancers, Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Sys., 7: 1-27.
13. Petrowski G.E., 1975, Food-grade emulsifiers, Food Technol., 29: 52-62.
14. Porter M. R., 1994, Handbook of Surfactants, Chapman & Hall, London, PP 168-200.
15. Robertis F. A., Robertis E. M. H., 1986, Cell and molecular biology, In: Cell Membranes. Saunders, London, PP: 239-245.
16. Sajadi Tabassi S. A., Mamaghani Sani D., 2001, Investigation of the effects of ionic surfactants on biological membranes using human erythrocytes as a model, Ir. J. Basic Med. Sci., 4(2): 89-94.
17. Scott Swenson E., Curatolo W., 1992, Means to enhance penetration, Adv. Drug Del. Rev., 8: 68-70.
18. Scott Swenson E., Milisen W. B., Curatolo W., 1994, Intestinal permeability enhancement: Efficacy, Acute local toxicity and Reversibility, Pharm. Res., 11 (8): 1132-1142.
19. Walters K.A., Dugard P.H., Florence A.T., 1981, Non-ionic surfactants and gastric mucosal transport of paraquat, J. Pharm. Pharmacol., 33: 207-213.
20. Walters K. A., Florence A. T., Dugard P. H., 1982, Non-ionic surfactants and the membrane transport of barbiturates in goldfish, Int. J. Pharm., 10: 153-163.
21. Zaslavsky B. Y., Ossipov N. N., Krivich V. S., Baholdina L. P., Rogozhin S. V., 1978, Action of surface active substances on biological membranes: II- hemolytic activity of non-ionic surfactants, Biochim. Biophys. Acta., 507: 1-7.

www.SID.ir