Archive of SID

ISSN: 2476-6917; Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(2):241-246

Investigation the Effect of Cholesterol on the Formation and Stability of the Liposomes using Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Parchekani Choozaki J.[1] *MSc,*
Taghdir M.*[1] *PhD*

How to cite this article
Taghdir M, Parchekani Choozaki J. Investigation the Effect of Cholesterol on the Formation and Stability of the Liposomes using Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(2): 241-246.

[1]Biophysics Department, Biological Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

**Correspondence*
Address: Tarbiat Modares University, Nasr Bridge, Jalal-Al-Ahmad Highway, Tehran, Iran. Postal Code: 1411713116
Phone: +98 (21) 82884701
Fax: +98 (21) 82884717
taghdir@modares.ac.ir

Article History
Received: October 17, 2017
Accepted: January 9, 2018
ePublished: June 20, 2019

ABSTRACT

Liposomes or biological vesicles are formed from cholesterol, phospholipids, and water. Also, sometimes other biological and non-biological molecules imported in the structure of liposome. The stability of the liposomes in the treatment of diseases and drug delivery, it is vitally important and can be influenced by the composition of phospholipid. In addition, the presence or absence of cholesterol may also affect the stability of liposome. Also, the formation of liposomes is affected by the presence or absence of cholesterol. In this study, we are seeking to affect the presence or absence of cholesterol on the stability and the formation of the liposome. For this purpose, the molecular dynamics simulation method is used. Liposomes that they are simulated was of two types of liposomes type I and liposome type II. The formation analyzes including radial distribution function and solvent accessible surface area showed that each of liposomes created. The type I liposome created one nanodisc structure and type II liposome created two nanodisc structures. Also, energy analysis including total energy, van der Waals interaction energy, and electrostatic interaction energy showed that type I liposome is more stable. Because the cholesterol molecules are the presence of in this liposome structure, that ability to gives hydrogen bonding with side lipids and an increase of stability. In addition, hydrophobic interactions between cholesterol and phospholipids as well as distribution and proper orientation of these parts play a major stake in the stability of the structure.

Keywords Liposomes; Stability; Phospholipids; Molecular Dynamics Simulation

CITATION LINKS

[1] Gregory Gregoriadis: Introducing liposomes to drug delivery [2] Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications [3] Prospects for gene therapy in lung disease [4] Randomized phase IIB trial of BLP25 liposome vaccine in stage IIIB and IV non-small-cell lung cancer [5] Protective effects of liposome-entrapped superoxide dismutase on posttraumatic brain edema [6] Cationic liposomes for gene therapy [7] Stimuli-Responsive Liposomes for Drug Delivery [8] Liposomes produced in a pilot scale: Production, purification and efficiency aspects [9] CHARMM-GUI micelle builder for pure/mixed micelle and protein/micelle complex systems [10] CHARMM-GUI martini maker for coarse-grained simulations with the martini force field [11] CHARMM-GUI PACE CG Builder for solution, micelle, and bilayer coarse-grained simulations [12] Improved DNA: Liposome complexes for increased systemic delivery and gene expression [13] Investigation on the interactions of peptides in the assembly of liposome and peptide by fluorescence [14] The use of liposomal daunorubicin (DaunoXome) in acute myeloid leukemia [15] Stealth liposomes: Review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential [16] Effect of simulation temperature on phospholipid bilayer-vesicle transition studied by coarse-grained molecular dynamics simulations [17] Targeted liposome-loaded microbubbles for cell-specific ultrasound-triggered drug delivery [18] Liposome: Classification, preparation, and applications [19] Nanotech approaches to drug delivery and imaging [20] Development of liposomal anthracyclines: From basics to clinical applications [21] A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems [22] Development of liposomal formulations: From concept to clinical investigations [23] Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release [24] Interactions between cholesterol and lipids in bilayer membranes, role of lipid headgroup and hydrocarbon chain-backbone linkage [25] In vitro study of a liposomal curcumin formulation (Lipocurc™): Toxicity and biological activity in synovial fibroblasts and macrophages [26] The effect of CpG-ODN on antigen presenting cells of the foal [27] HDL surface lipids mediate CETP binding as revealed by electron microscopy and molecular dynamics simulation

Copyright© 2019, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی تاثیر کلسترول روی شکل‌گیری و پایداری لیپوزوم‌ها با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی دانه‌درشت

جلیل پرچکانی چوزکی MSc
گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
مجید تقدیر* PhD
گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده
لیپوزوم‌ها یا وزیکول‌های زیستی از کلسترول، فسفولیپید و آب تشکیل می‌شوند. همچنین گاهی اوقات سایر مولکول‌های زیستی و غیرزیستی در ساختار لیپوزوم به کار برده می‌شوند. مفهوم پایداری لیپوزومی، در بحث درمان بیماری‌ها و دارورسانی، بسیار حیاتی و مهم است و می‌تواند متاثر از ترکیب فسفولیپیدی غشای لیپوزوم باشد. علاوه بر این حضور و عدم حضور کلسترول نیز می‌تواند پایداری لیپوزومی را تحت تاثیر قرار دهد.همچنین شکل‌گیری لیپوزوم‌ها نیز تحت تاثیر حضور یا عدم حضور کلسترول است. در این تحقیق ما درصدد هستیم تا اثر حضور و عدم حضور کلسترول را روی پایداری و شکل‌گیری لیپوزومی بررسی کنیم، که به این منظور از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده می‌شود. لیپوزوم‌هایی که مورد شبیه‌سازی قرار گرفتند شامل دو نوع لیپوزوم، لیپوزوم دوناگزومه (نوع اول) و لیپوزوم دوناگزومه فاقد کلسترول (نوع دوم) هستند. آنالیزهای شکل‌گیری شامل تابع توزیع شعاعی و ناحیه سطح در دسترس حلال نشان دادند که هر کدام از لیپوزوم‌ها ساختارهای نانودیسکی کروی ایجاد کرده‌اند. لیپوزوم نوع اول یک ساختار نانودیسکی و لیپوزوم نوع دوم دو ساختار نانودیسکی ایجاد کرد. همچنین آنالیزهای انرژی شامل انرژی کل، انرژی میان‌کنش‌های واندروالس و الکترواستاتیک نشان دادند که لیپوزوم نوع اول پایدارتر است. دلیل این پایداری حضور مولکول کلسترول در ساختار این لیپوزوم است که توانایی ایجاد پیوند هیدروژنی با لیپیدهای مجاور دارد و باعث افزایش پایداری می‌شود. به‌علاوه میان‌کنش‌های آب‌گریز بین کلسترول و فسفولیپیدها و همچنین توزیع و جهت‌گیری مناسب این قسمت‌ها سهم عمده‌ای در پایداری ساختار ایفا می‌کند.
کلیدواژه‌ها: لیپوزوم، پایداری، فسفولیپیدها، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۹
*نویسنده مسئول: taghdir@modares.ac.ir

مقدمه

برای اولین‌بار محقق یونانی به نام *گرگوری* پیشنهاد کرد که از لیپوزوم‌ها می‌توان به‌عنوان حامل‌های مواد دارویی استفاده کرد. سپس به تدریج لیپوزوم‌هایی طراحی شدند که قادر بودند مقدار بیشتری از مواد دارویی را در خود ذخیره و حمل کنند و قادر بودند که مواد دارویی را به‌صورت همگن و مداوم در بافت هدف آزاد کنند. سپس گزارش‌هایی از کاربرد لیپوزوم‌ها در حمل داروهای ضدسرطانی و همچنین کاربرد آنها در تشخیص سرطان ارایه شد. بعد به‌زودی مشخص شد که در نسل اول لیپوزوم‌های طراحی‌شده، وقتی لیپوزوم مورد نظر در معرض پروتئین‌های سرمی قرار می‌گیرد به‌علت پایداری کم، موجب نشت مواد دارویی از لیپوزوم به بیرون می‌شود، که طی گزارشی که ارایه شد با واردکردن کلسترول و اسفنگومیلین در ساختار لیپوزوم می‌توان از نشت مواد دارویی به بیرون لیپوزوم جلوگیری کرد. براساس قوانین ترمودینامیک، مولکول‌های دوگانه‌دوست فسفولیپید به شکل منظم در یک کره بسته قرار می‌گیرند تا گروه‌های آب‌گریزشان را روبه‌روی هم در داخل این کره و دور از مولکول آب پوشش دهند و در همان حال گروه‌های آب‌دوست در تماس با مولکول‌های آب قرار می‌گیرند[1-3].

لیپوزوم قادر است "داروهای محلول در آب" را در بخش آب‌دار مرکزی و "داروهای محلول در چربی" را در داخل غشای دو لایه خود پوشش دهد. علاوه بر قابلیت دربرگیری و حمل دارو، لیپوزوم مزایای دیگری نیز دارد که می‌توان به سهولت تولید در حجم زیاد و با کیفیت عالی، تنوع بسیار وسیع در اندازه، ترکیب شیمیایی، بار الکتریکی، سیال‌بودن غشای دولایه‌ای و تنوع در تعداد لایه‌ها اشاره کرد. لیپوزوم را می‌توان با ترکیب نسبت‌های مختلف از مولکول‌های سازنده آن ساخت. لیپوزوم‌ها به‌طور گسترده به‌عنوان حامل برای تعداد زیادی از مولکول‌ها در مطالعات دارویی و لوازم آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند، همچنین در مطالعات مربوط به صنایع غذایی و کشاورزی نیز از لیپوزوم‌ها به‌منظور به دام‌انداختن ترکیبات ناپایدار (برای مثال آنتی‌اکسیدان‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، طعم‌دهنده‌ها و عناصر فعال زیستی) و همچنین به‌عنوان سپری محافظ برای حفظ عملکرد ترکیبات مورد نظر استفاده می شود[4, 5].

دو جرء اصلی تشکیل‌دهنده ساختار لیپوزوم‌ها شامل فسفولیپیدها و کلسترول است. که معمولاً میزان فسفولیپیدها بیشتر از میزان کلسترول در ساختار لیپوزوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. فسفولیپیدها مولکول‌های اصلی تشکیل‌دهنده ساختار لیپوزوم‌ها هستند و بدنه اصلی لیپوزوم‌ها را تشکیل می‌دهند. فسفولیپیدها با توجه به ماهیت و ساختار دوگانه‌دوستی که دارند، به یک غلظت خاصی که برسند تشکیل ساختارهای کروی مانندی را می‌دهند که لیپوزوم نامیده می‌شوند. در واقع نقش اصلی فسفولیپیدها شروع‌کردن فرآیند شکل‌گیری لیپوزوم‌ها است. در واقع ماهیت دوگانه‌دوستی لیپوزوم‌ها طوری است که ساختار اولیه حاصل از لیپیدها را به سوی تشکیل لیپوزوم حلقوی سوق می‌دهد. جزء دوم تشکیل‌دهنده ساختار لیپوزوم‌ها مولکول کلسترول است که موجب استحکام ساختار لیپوزوم‌های تشکیل‌شده است. در واقع کلسترول با توجه به ساختاری که دارد و با استفاده از حلقه‌های آب‌گریز خود بین غشای دو لایه لیپوزوم قرار می‌گیرد و با پیوندی که با مولکول‌های فسفولیپید مجاور برقرار می‌کند، یک اثر تثبیتی روی لیپوزوم ایجادشده دارد.

مهم‌ترین مانع در تکنولوژی لیپوزوم‌ها به‌خصوص در استفاده از آنها به‌عنوان حامل دارو، عدم پایداری آنها به‌مدت طولانی است. پایداری فیزیکی و شیمیایی لیپوزوم‌ها تحت تاثیر عوامل مختلفی است که می‌توانند روی میزان پایداری لیپوزوم‌ها و کارآیی نفوذ دارو در آنها اثر بگذارند. به همین خاطر نیاز است که پایداری لیپوزوم‌ها برای مدت‌طولانی فراهم شود. پایداری درازمدت لیپوزوم‌ها که حاوی مواد دارویی نیز هستند به‌شدت تحت تاثیر نوع فسفولیپید استفاده شده و همچنین حضور یا عدم حضور کلسترول در ساختار لیپوزوم است. عوامل نام‌برده‌شده همچنین می‌توانند روی شکل‌گیری لیپوزوم‌ها نیز موثر باشند. بنابراین در این تحقیق ما در صدد آن هستیم که با استفاده از شبیه‌سازی مولکولی دانه‌درشت، تاثیر حضور و عدم حضور کلسترول روی شکل‌گیری و پایداری لیپوزوم‌ها را مورد بررسی قرار دهیم. به این منظور لیپوزوم دوناگزومه مورد طراحی در محیط شبیه‌سازی قرار گرفت. به‌منظور بررسی اثر کلسترول این لیپوزوم در دو حالت حضور و عدم حضور کلسترول ساخته شد. در ترکیب لیپوزوم نوع اول از مولکول کلسترول و ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین با نسبت ۲ به ۱ استفاده شد و لیپوزوم نوع دوم فقط از لیپید ۱و۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین ساخته شد. لازم به ذکر است که تعداد کلسترول و ۱ و ۲-دی استئارویل-

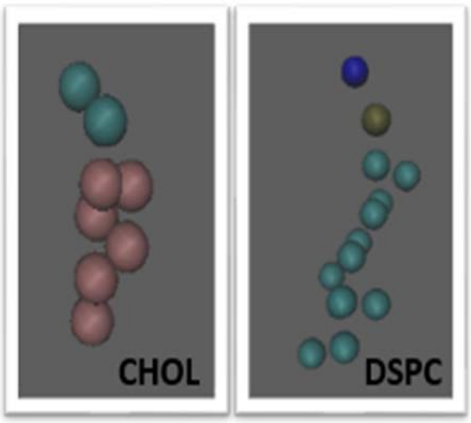
www.SID.ir

Archive of SID

اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین موجود در لیپوزوم نوع اول با تعداد مولکول‌های ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین برابر است[6-8].

دریافت داده ساختاری

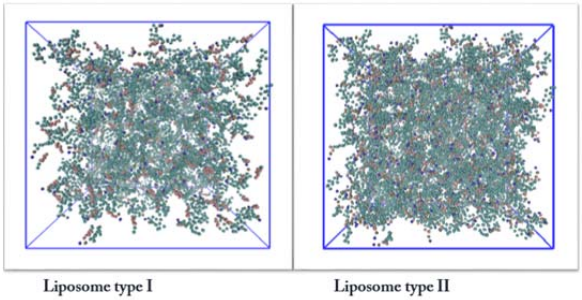
شبیه‌سازی دانه‌درشت اتم‌های مشابه نزدیک هم را به‌صورت یک کره در نظر می‌گیرد. شبیه‌سازی دانه‌درشت امکان شبیه‌سازی سیستم‌هایی را فراهم می‌کند که در مقیاس‌های زمانی تمام اتم معمولی در دسترس نیست. مقیاس زمانی که شبیه‌سازی دانه‌درشت صورت می‌گیرد در حد میکروثانیه است. چالش اصلی در این تحقیق انتخاب لیپوزوم‌های مناسب بود، لازم بود که لیپوزوم‌هایی انتخاب شوند که گزینه مناسبی برای انجام شبیه‌سازی دینامیک مولکولی باشند. منظور از مناسب‌بودن لیپوزوم‌ها این است که باید این لیپوزوم‌ها دارای لیپیدهایی می‌بودند که دارای میدان‌های نیروی مشخص بودند و قابلیت شبیه‌سازی آنها نیز در نرم‌افزار گرومکس فراهم می‌شد. به همین خاطر لیپوزوم دوناگزومه و لیپوزوم مشتق آن انتخاب شدند. مختصات داده اولیه لیپید ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین و مولکول کلسترول به‌صورت حالت دانه‌درشت از سایت CHARMM (http://www.charmm-gui.org) دریافت شد (شکل ۱). علاوه بر این با استفاده از این سایت فایل‌های پارامتر (شامل فایل‌های ITP و TOP) نیز که برای شبیه‌سازی اصلی در محیط گرومکس نیاز بودند، دریافت شد و برای مراحل بعدی استفاده شد[9-13].



شکل ۱) ساختار دانه‌درشت مولکول‌های کلسترول و ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین که از سایت CHARMM به دست آمده است.

ایجاد جعبه و آب‌پوشی ساختارهای لیپوزومی

با استفاده از نرم‌افزار گرومکس برای هر کدام از لیپوزوم‌ها جعبه شبیه‌سازی تعریف شد. ابعاد جعبه برای هر کدام از لیپوزوم‌ها به‌صورت مکعبی و در ابعاد ۲۰*۲۰*۲۰نانومتر تعریف شد و فاصله غشا یا ساختار ایجادشده از کناره‌های جعبه ۰/۳نانومتر در نظر گرفته شد. تعداد مولکول‌های لیپید برای هر کدام از لیپوزوم‌ها اضافه شد. برای لیپوزوم نوع اول ۶۰۱ مولکول ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین، ۳۰۰ مولکول کلسترول و ۶۰۳۱۱ مولکول آب و برای لیپوزوم نوع دوم ۹۰۱ مولکول ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین و ۶۰۳۱۱ مولکول آب اضافه شد (شکل ۲). این پارامترها براساس مقاله‌های تجربی است که لیپوزوم‌های مذکور را با نسبت و غلظت بیان‌شده، در آزمایشگاه سنتز می‌کنند. مولکول‌های آب به‌منظور آب‌پوشی سیستم اضافه شدند. نوع آب مورد استفاده در این تحقیق آب حالت دانه‌درشت و قطبی است[14, 15].



شکل ۲) جعبه شبیه‌سازی تعریف‌شده برای هر کدام از لیپوزوم‌های نوع اول و دوم و تعداد مناسب لیپیدهای اضافه‌شده در داخل جعبه شبیه‌سازی

مطالعات شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

در این مطالعه دو فرآیند شبیه‌سازی دینامیک مولکولی انجام شد. شبیه‌سازی اول روی لیپوزوم نوع اول متشکل از مولکول‌های ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین و کلسترول، به‌مدت ۱۰۰۰نانوثانیه (یک‌میکروثانیه) و شبیه‌سازی دوم روی لیپوزوم نوع دوم که حاصل مولکول‌های ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین است، در مدت‌زمان مشابه صورت گرفت. تمام شبیه‌سازی‌ها با نرم‌افزار گرومکس و میدان نیروی مارتینی انجام شد. مرحله بهینه‌سازی انرژی، ۳۰۰۰ گام و همین‌طور تعادل‌رسانی در حجم ثابت برای تنظیم دما روی ۴۰۰درجه کلوین و تعادل‌رسانی در فشار ثابت برای تنظیم فشار روی یک‌اتمسفر، هر کدام به‌مدت یک‌نانوثانیه صورت گرفت. بعد از این مراحل مرحله شبیه‌سازی اصلی (مرحله تولید) به‌مدت یک‌میکروثانیه انجام شد.

همچنین مقدار تایم‌استپ در مرحله تولید ۲۰فمتوثانیه تنظیم شد[16-18].

آنالیز نتایج حاصل از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

در این تحقیق نتایج حاصل از شبیه‌سازی با دو رویکرد مورد بررسی قرار گرفتند. یک‌سری از آنالیزها به‌منظور بررسی شکل‌گیری ساختارهای لیپوزمی مورد استفاده قرار گرفتند که شامل آنالیزهای تابع توزیع شعاعی و ناحیه سطح در دسترس حلال هستند. آنالیزهای نوع دوم برای بررسی پایداری ساختارهای لیپوزومی ایجادشده انجام شدند که شامل آنالیزهای انرژی میان‌کنش‌های واندروالسی (لئونارد-جونز)، میان‌کنش‌های الکترواستاتیک (کولومبی) و آنالیز انرژی کل هستند.

نتایج و بحث

امروزه مطالعات و پژوهش‌های تئوری و تجربی زیادی به بررسی پایداری لیپوزوم‌ها می‌پردازند. لیپوزوم‌ها به‌صورت تجربی در آزمایشگاه‌ها سنتز می‌شوند، ولی مانعی که در سنتز این حامل‌ها وجود دارد این است که هزینه سنتز آنها بالا است و موادی که در تکنولوژی لیپوزوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، موادی با قیمت بالا هستند. از طرف دیگر نیاز روزافزون است که لیپوزوم‌ها بهینه شوند و بهبود داده شوند. این نیاز باعث شده است که استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در این حیطه بسیار اهمیت یابد. در واقع شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به‌عنوان یک مطالعه اولیه و تکمیلی کمک می‌کند تا روند شکل‌گیری و پایداری لیپوزوم‌ها مورد

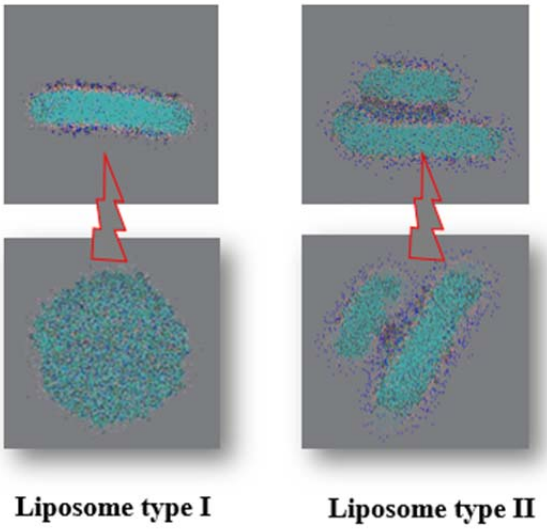
www.SID.ir

Archive of SID

بررسی قرار گیرد. با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی می‌توان تاثیر عوامل مختلف روی شکل‌گیری لیپوزوم‌ها را مورد بررسی قرار داد تا در نهایت بتوان یک لیپوزوم ایده‌آل را سنتز کرد. همچنین با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی می‌توان سهم هر کدام از میان‌کنش‌های پیوندی و غیرپیوندی در تشکیل لیپوزوم‌ها را به دست آورد و در نهایت با کسب چنین نتایجی می‌توان لیپوزوم‌ها را با هزینه کمتر و صرفه‌جویی در مواد، سنتز کرد[19, 20].

در این تحقیق هدف اصلی بررسی اثر حضور و عدم حضور کلسترول روی شکل‌گیری و پایداری ساختارهای لیپوزومی است که به این منظور از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده شد و برای انجام این رویکرد دو لیپوزوم انتخاب شدند. در تحقیق ما دو مبحث مورد بررسی است، مورد اول بحث مطالعات ساختاری و شکل‌گیری لیپوزوم‌ها است و مورد دوم بحث انرژی‌ها و پایداری لیپوزوم‌ها است. با استفاده از فایل‌های حاصل از فایل مسیر شبیه‌سازی، پارامترهایی در بحث شکل‌گیری و ساختار و همچنین بحث انرژی‌ها و پایداری استخراج شدند و نتایج به‌دست‌آمده حاکی از تفاوت‌هایی در شکل‌گیری و پایداری لیپوزوم‌های مذکور بود. شکل ۳ ساختارهای نهایی ایجادشده بعد از یک‌میکروثانیه شبیه‌سازی را نشان می‌دهد[22].

در بحث شکل‌گیری همان‌طور که در شکل‌ها مشخص است لیپوزوم نوع اول تشکیل یک ساختار کروی نانودیسکی را داد و لیپوزوم نوع دوم دو ساختار نانودیسکی ایجاد کرد (شکل ۳).



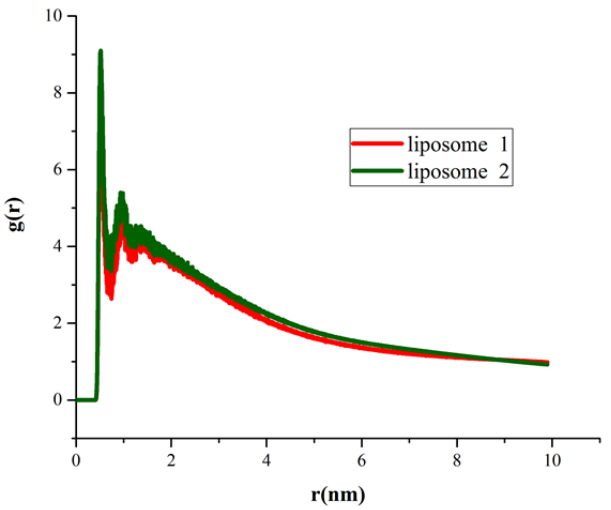
شکل ۳) ساختار نهایی لیپوزوم‌ها در محیط شبیه‌سازی گرومکس که ساختارهای نانودیکسی ایجاد کرده‌اند.

نکته‌ای که باید در نظر داشت هر دو لیپوزوم نوع اول و دوم دارای لیپید DSPC هستند که این لیپید دارای ساختار هندسی استوانه‌ای است و گروه سری با اندازه کوچک است که باعث شکل‌گرفتن ساختار کروی نانودیسکی می‌شود[21]. نکته دیگر این است که حضور کلسترول در لیپوزوم نوع اول باعث افزایش پایداری در این لیپوزوم شده است و این ادعا را آنالیزهای انرژی کل، انرژی واندروالسی و انرژی کولومبی تایید کرده و بیانگر این امر هستند که لیپوزوم نوع اول پایدارتر است. در واقع طبق مقالات ارایه‌شده، کلسترول موجود در ساختار لیپوزوم نوع اول توانایی این را دارد که با لیپید مجاور خود پیوند هیدروژنی برقرار کند و باعث افزایش پایداری لیپوزوم مورد نظر شود[23, 24]. آنالیز تابع توزیع شعاعی برای بررسی شکل‌گیری و توزیع لیپیدها انجام شد. این آنالیز نشان می‌دهد که هر کدام از لیپوزوم‌ها ساختار نهایی خود یعنی ساختارهای نانودیسکی ایجاد کرده‌اند (نمودار ۱).

سطح هیدروفوبی یکی از آنالیزهایی است که برای شکل‌گیری ساختارهای غشایی و لیپوزومی استفاده می‌شود. طبق مقالات ارایه‌شده با شکل‌گیری لیپوزوم‌ها و ساختارهای غشایی از میزان سطح هیدروفوبی کاسته می‌شود. در واقع با نزدیک‌شدن لیپیدها به یکدیگر از میزان سطح هیدروفوبی نسبت به مولکول‌های آب کاسته می‌شود و در نتیجه در نمودار مربوطه از میزان ناحیه سطح در دسترس حلال کاسته می‌شود. میزان این پارامتر برای لیپوزوم نوع دوم بیشتر از نوع اول است (نمودار ۲) [25, 26].

علتش این است که لیپوزوم نوع دوم دو ساختار نانودیسکی ایجاد کرده است در حالی لیپوزوم نوع اول یک ساختار نانودیسکی ایجاد کرده است. علاوه بر این لیپوزوم نوع اول دارای کلسترول است که با لیپیدهای کناری خود اینترکشن هیدورژنی برقرار می‌کند و باعث بسته‌بندی بهتر لیپیدها کنار هم شده و در نتیجه از میزان سطح هیدروفوبی کاسته می‌شود. در رابطه با بحث پایداری، آنالیزهای انرژی صورت گرفت. انرژی کل، انرژی واندروالسی و انرژی الکترواستاتیک نشان دادند که لیپوزوم نوع اول که دارای مولکول‌های کلسترول و ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین است، دارای پایداری بیشتری است. دلیل این پایداری بیشتر حضور کلسترول در ساختار این لیپوزم است که با لیپید کناری خود پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند (نمودارهای ۳، ۴ و ۵) [27].

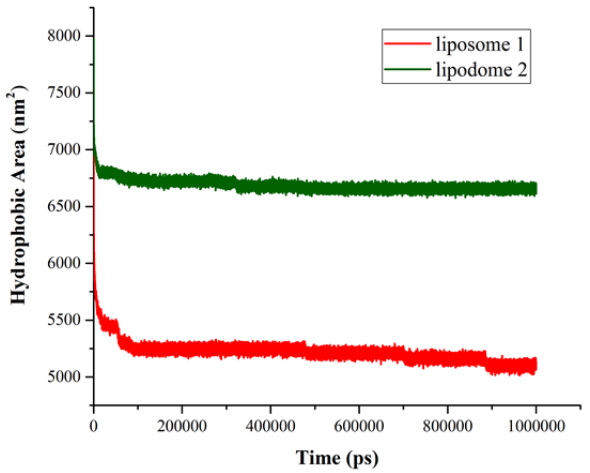
از محدودیت مطالعات در این حیطه محدودبودن دسترسی به سخت‌افزارهایی با پتانسیل محاسباتی مناسب است که با پیشرفت امکانات می‌توان بر این مشکل فائق آمد و مطالعه حاظر می‌تواند بستری برای مطالعات آینده مانند تاثیر حضور کلسترول بر دمای انتقال فاز و میزان نفوذپذیری لیپوزوم‌ها به‌عنوان حامل را ایجاد کند.



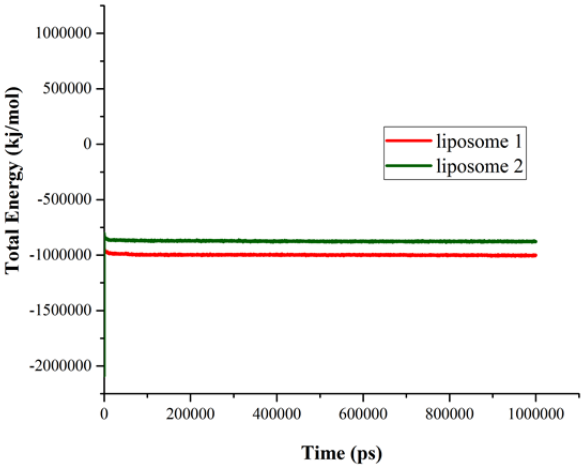
نمودار ۱) آنالیز تابع توزیع شعاعی که نشان‌دهنده شکل‌گیری لیپوزوم‌ها در محیط شبیه‌سازی است.

www.SID.ir

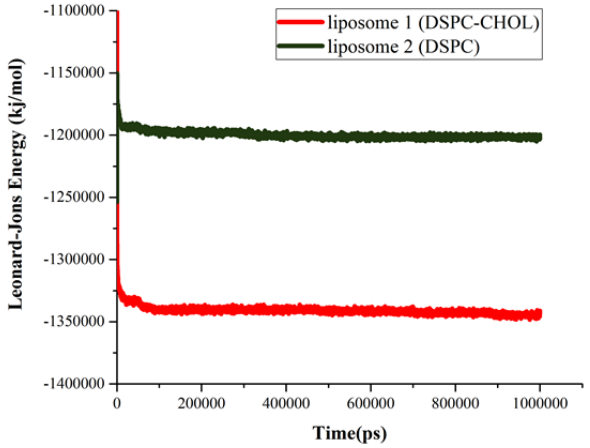
Archive of SID



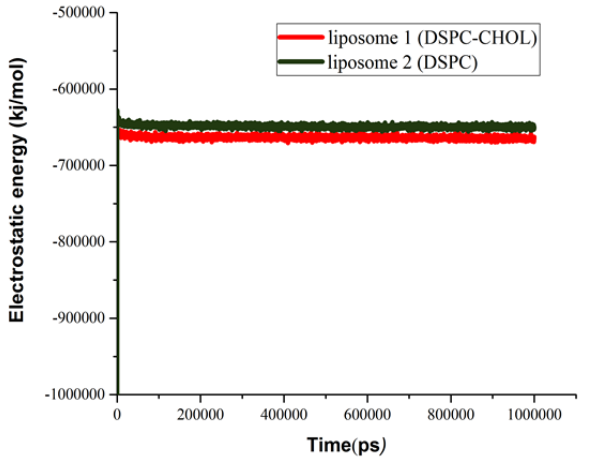
نمودار ۲) آنالیز سطح هیدروفوبی که برای هر کدام از لیپوزوم‌ها با یک روند نزولی آغاز می‌شود و بیانگر این است که ساختارهای نانودیسکی در محیط شبیه‌سازی شکل گرفته‌اند. میزان ناحیه سطح در دسترس حلال لیپوزوم نوع اول بیشتر از لیپوزوم نوع دوم است.



نمودار ۵) انرژی کل برای هر کدام از لیپوزوم‌های نوع اول و دوم که همان‌طور که در شکل مشخص است برای لیپوزوم نوع اول انرژی کل بیشتر است و از نظر انرژی کل لیپوزووم نوع اول پایدارتر است.



نمودار ۳) انرژی میان‌کنش‌های واندروالس برای هر کدام از لیپوزوم‌های نوع اول و دوم که همان‌طور که در شکل مشخص است برای لیپوزوم نوع اول انرژی میان‌کنش‌های واندروالس بیشتر است و از نظر میان‌کنش‌های واندروالس لیپوزووم نوع اول پایدارتر است.



نمودار ۴) انرژی میان‌کنش‌های الکترواستاتیک برای هر کدام از لیپوزوم‌های نوع اول و دوم که همان‌طور که در شکل مشخص است برای لیپوزوم نوع اول انرژی میان‌کنش‌های الکترواستاتیک بیشتر است و از نظر میان‌کنش‌های الکترواستاتیک لیپوزووم نوع اول پایدارتر است.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق اثر حضور و عدم حضور کلسترول روی شکل‌گیری و پایداری ساختارهای لیپوزومی مورد مطالعه قرار گرفت. دو نوع لیپوزوم شامل لیپوزوم دوناگزومه (نوع اول) که (شامل مولکول‌های کلسترول و ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین) و لیپوزوم دوناگزومه فاقد کلسترول (نوع دوم) که (شامل مولکول ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین) است، انتخاب شدند. نتایج و آنالیزهای به‌دست‌آمده از مطالعه شبیه‌سازی دینامیک شکل‌گیری لیپوزوم‌ها نشان داد هر دو لیپوزوم انتخابی ساختار نانودیسکی ایجاد کردند که ناشی از خواص شیمی- فیزیکی فسفولیپید ۱ و ۲-دی استئارویل-اس ان-گلیسرو-۳-فسفوکولین و کلسترول است. آنالیز تابع توزیع شعاعی که به‌منظور بررسی شکل‌گیری و توزیع لیپیدها انجام شد، به‌خوبی نشان داد که هر دو لیپورزوم ساختار نانودیسکی متراکم و واحدی را ایجاد کرده‌اند و فسفولیپیدها با توزیع همگنی در کنار یکدیگر تجمع یافته‌اند. آنالیز ناحیه سطح در دسترس حلال دارای نمودار با روند نزولی است که بیانگر تجمع فسفولیپیدها در کنار همدیگر و ایجاد ساختار نهایی نانودیسکی است. آنالیزهای انرژی شامل انرژی کل، انرژی میان‌کنش‌های واندروالس و الکترواستاتیک نشان داد که لیپوزوم نوع اول پایدارتر است که دلیل آن حضور مولکول کلسترول در ساختار این لیپوزوم است که درگیر پیوند هیدروژنی با فسفولیپیدهای مجاور است و باعث افزایش پایداری این ساختار می‌شود. به‌علاوه مولکول کلسترول (حلقه‌های آروماتیک) با فسفولیپیدهای مجاور میان‌کنش‌های واندروالسی برقرار می‌کند که توزیع و جهت‌گیری مناسب میان‌کنش‌های آب‌گریز بین مولکول‌های فسفولیپید و کلسترول نیز سهم عمده‌ای در پایداری ساختار مورد نظر دارد.

تشکر و قدردانی: از دانشگاه تربیت مدرس به‌خاطر در اختیار قراردادن امکانات برای انجام این تحقیق سپاسگذاریم.
تاییدیه‌اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.
تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.
سهم نویسندگان: جلیل پرچکانی چوزکی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۵۰%)؛ مجید تقدیر (نویسنده

www.SID.ir

Archive of SID

دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی /تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (%۵۰)

منابع مالی: مطالعه حاضر تحت حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس بوده است.

منابع

1- Perrie Y. Gregory Gregoriadis: Introducing liposomes to drug delivery. J Drug Target. 2008;16(7):518-9.

2- Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. Adv Drug Deliv Rev. 2013;65(1):36-48.

3- Davies JC, Geddes DM, Alton EW. Prospects for gene therapy in lung disease. Curr Opin Pharmacol. 2001;1(3):272-7.

4- Butts C, Murray N, Maksymiuk A, Goss G, Marshall E, Soulières D, et al. Randomized phase IIB trial of BLP25 liposome vaccine in stage IIIB and IV non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol. 2005;23(27):6674-81.

5- Chan PH, Longar S, Fishman RA. Protective effects of liposome-entrapped superoxide dismutase on posttraumatic brain edema. Ann Neurol. 1987;21(6):540-7.

6- Miller AD. Cationic liposomes for gene therapy. Angewandte Chemie International Edition. 1998;37(13-14):1768-85.

7- Lee Y, Thompson DH. Stimuli-Responsive Liposomes for Drug Delivery. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2017;9(5):10.1002/wnan.1450.

8- Wagner A, Vorauer-Uhl K, Katinger H. Liposomes produced in a pilot scale: Production, purification and efficiency aspects. Eur J Pharm Biopharm. 2002;54(2):213-9.

9- Cheng X, Jo S, Lee HS, Klauda JB, Im W. CHARMM-GUI micelle builder for pure/mixed micelle and protein/micelle complex systems. J Chem Inf Model. 2013;53(8):2171-80.

10- Qi Y, Ingólfsson HI, Cheng X, Lee J, Marrink SJ, Im W. CHARMM-GUI martini maker for coarse-grained simulations with the martini force field. J Chem Theory Comput. 2015;11(9):4486-94.

11- Qi Y, Cheng X, Han W, Jo S, Schulten K, Im W. CHARMM-GUI PACE CG Builder for solution, micelle, and bilayer coarse-grained simulations. J Chem Inf Model. 2014;54(3):1003-9.

12- Templeton NS, Lasic DD, Frederik PM, Strey HH, Roberts DD, Pavlakis GN. Improved DNA: Liposome complexes for increased systemic delivery and gene expression. Nat Biotechnol. 1997;15(7):647-52.

13- Uemura A, Kimura S, Imanishi Y. Investigation on the interactions of peptides in the assembly of liposome and peptide by fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes. 1983;729(1):28-34.

14- Fassas A, Anagnostopoulos A. The use of liposomal daunorubicin (DaunoXome) in acute myeloid leukemia. Leuk Lymphoma. 2005;46(6):795-802.

15- Immordino ML, Dosio F, Cattel L. Stealth liposomes: Review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. Int J Nanomedicine. 2006;1(3):297-315.

16- Chng CP. Effect of simulation temperature on phospholipid bilayer-vesicle transition studied by coarse-grained molecular dynamics simulations. Soft Matter. 2013;9(30):7294-301.

17- Geers B, De Wever O, Demeester J, Bracke M, De Smedt SC, Lentacker I. Targeted liposome-loaded microbubbles for cell-specific ultrasound-triggered drug delivery. Small. 2013;9(23):4027-35.

18- Akbarzadeh A, Rezaei Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: Classification, preparation, and applications. Nanoscale Res Lett. 2013;8(1):102.

19- Sahoo SK, Labhasetwar V. Nanotech approaches to drug delivery and imaging. Drug Discov Today. 2003;8(24):1112-20.

20- Gabizon A, Goren D, Cohen R, Barenholz Y. Development of liposomal anthracyclines: From basics to clinical applications. J Control Release. 1998;53(1-3):275-9.

21- Li J, Wang X, Zhang T, Wang C, Huang Z, Luo X, et al. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. Asian J Pharm Sci. 2015;10(2):81-98.

22- Fan Y, Zhang Q. Development of liposomal formulations: From concept to clinical investigations. Asian J Pharm Sci. 2013;8(2):81-7.

23- Briuglia ML, Rotella C, Mc Farlane A, Lamprou DA. Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release. Drug Deliv Transl Res. 2015;5(3):231-42.

24- Bhattacharya S, Haldar S. Interactions between cholesterol and lipids in bilayer membranes, role of lipid headgroup and hydrocarbon chain-backbone linkage. Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes. 2000;1467(1):39-53.

25- Kloesch B, Gober L, Loebsch S, Vcelar B, Helson L, Steiner G. In vitro study of a liposomal curcumin formulation (Lipocurc™): Toxicity and biological activity in synovial fibroblasts and macrophages. In Vivo. 2016;30(4):413-9.

26- Flaminio MJBF, Borges AS, Nydam DV, Horohov DW, Hecker R, Matychak MB. The effect of CpG-ODN on antigen presenting cells of the foal. J Immune Based Ther Vaccines. 2007;5:1.

27- Zhang M, Charles R, Tong H, Zhang L, Patel M, Wang F, et al. HDL surface lipids mediate CETP binding as revealed by electron microscopy and molecular dynamics simulation. Sci Rep. 2015;5:8741.

www.SID.ir