مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۳، خرداد ۱۳۹۴
صفحه: ۲۰۱۲-۲۰۰۰

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.3, May-Jun 2015
Pages: 2000-2012

طراحی و ساخت نانولیپوزوم آهسته رهش حاوی داروی گیاهی ضدسرطان سیلیبینین (نانوفایتوزوم)

محمد مهدی اوچی اردبیلی[۱]، قاسم عمو عابدینی[*۲]، سید مهدی رضایت[۳]، عظیم اکبرزاده[۴]، بهمن ابراهیمی[۵]

چکیده

مقدمه: نانو لیپوزوم‌ها، کپسول‌های نانومتری کروی با غشاء لیپیدی می‌باشند که به عنوان حامل‌های دارویی برای بهبود رسانش عوامل درمانی مورد مطالعه قرار می‌گیرند. این تحقیق به منظور ارتقای اثرگذاری داروی گیاهی سیلیبینین از طریق بارگذاری این دارو در نانولیپوزوم برای رسانش به سلول‌های سرطانی کبد می‌باشد. سیلیبینین نیز یکی از داروی‌های ضدسرطان است که خاصیت ضدتوموری آن در کاهش ماده N-nitrosodiethylamine در سلول‌های کارسینومای کبد می‌باشد. انکپسوله شدن سیلیبینین در نانولیپوزوم فعالیت بیولوژیکی آن را بهبود بخشیده و پایداری سیلیبینین را در خون افزایش می‌دهد.

روش بررسی: وزیکل‌های تک لایه کوچک حامل سیلیبینین با استفاده از فاز لیپیدی شامل: فسفولیپید DPPC، کلسترول، فسفولیپید DSPE-MPEG2000 با نسبت مولی ۷: ۴: ۰/۳۶ و ترکیب فلورسنت DIL با درصد مولی ۰/۰۹٪ در غشاء دو لایه لیپیدی و بافر HEPES به عنوان فاز آبدوست تولید گردیدند. همچنین اندازه نانو لیپوزوم‌ها، پتانسیل زتا، میزان بارگذاری و منحنی رهایش دارو بعد از تولید نانو لیپوزوم‌ها اندازه‌گیری گردیدند.

نتایج: میانگین قطر نانولیپوزوم‌ها ۴۶/۳ نانومتر بود. بار سطحی نانولیپوزوم حامل دارو، ۲۳/۲۵- نشان داده شد. بارگذاری ترکیب سیلیبینین در حدود ۲۴/۳۷ ٪ به دست آمد.

نتیجه‌گیری: مزیت این تحقیق نسبت به پژوهش‌های مشابه پیشین روی داروی سیلیبینین، در بارگذاری این دارو در نانو حامل لیپوزومی با منحنی آهسته رهش با اندازه مناسب زیر ۵۰ نانومتر می‌باشد که در بهبود پایداری سیلیبینین به منظور رسانش به سلول‌های سرطانی کبد، کاربرد خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: نانولیپوزوم، کپسوله کردن، سرطان کبد، سیلیبینین

۱- دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی، مرکز پژوهشی فناوری های نوین در مهندسی علوم زیستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲- دانشیار گروه مهندسی بیوتکنولوژی و داروسازی، مرکز پژوهشی فناوری های نوین در مهندسی علوم زیستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳- استاد گروه فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، تهران، ایران
۴- استاد گروه نانوبیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۵- استادیار گروه مهندسی علوم زیستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
***(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۶۶۴۰۸۸۰۸-۰۲۱، پست الکترونیکی:** amoabediny@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۱۹ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۷**

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

مقدمه

رصدخانه علم و فناوری اروپا در یک بررسی جهانی در سال ۲۰۰۶ میلادی (ESTO: European Science and Technology Observatory) عنوان نمود بیش از ۱۵۰ شرکت در توسعه فرآیند درمان در مقیاس نانو فعال می‌باشند و ۲۴ نوع نانوذره جهت درمان استفاده می‌گردد(۱). هدف از طراحی و توسعه چنین سیستم‌های دارورسانی، رسیدن به سیستمی با میزان بارگیری مناسب دارو، خواص آزادسازی مطلوب و موردنظر، رسانش هدفمند، پایداری دارو، نیمه عمر بالا و سمیت پایین می‌باشد. بکارگیری نانوذرات به عنوان حامل‌های دارویی، شکل جدیدی از رسانش دارو به سلول‌های سرطانی را از طریق ورود به روزنه های مویرگ‌های توده سرطانی ارایه می‌نماید. این امر سبب رسانش غلظت بالایی از دارو به طور اختصاصی به سلول‌های سرطانی هدف شده و آثار تخریبی بر روی بافت‌های سالم را کاهش می‌دهد(۲). دو گروه از نانوذرات، لیپوزوم‌ها و اتصالات دارو پلیمر بیش از ۸۰ درصد نانوذرات درمانی در دسترس در کاربردهای بالینی می‌باشند. لیپوزوم‌ها ذرات کلوئیدی هستند که از یک غشا، دولایه لیپیدی متشکل از مولکول های لیپیدی آمفیفیلیک خود آرایش یابنده تشکیل شده‌اند که بخشی از فاز آبی را در خود کپسول می‌نمایند. مشخصه‌های دما، pH، قدرت یونی بر روی پایداری لیپوزوم‌ها تأثیر دارد و با کاهش اندازه لیپوزوم‌ها و تعدیل کردن بار سطحی آنها می‌توان لیپوزوم‌های جدیدتری با اندازه ۸۰ تا ۲۰۰ نانومتر با بار منفی و یا خنثی تولید نمود که کمتر توسط سیستم (RES: Reticuloendothelial System) جذب شوند. PEG پلیمری مؤثر در جلوگیری از فرایند جذب توسط پروتئین‌ها می‌باشد. تأثیر تثبیت میکرومولکول‌های PEG بر سطح حمل کننده‌های داور در افزایش زمان گردش یا افزایش دسترسی زیستی لیپوزوم‌ها به خوبی شناخته شده است(۳). از مزایای استفاده از نانوذرات هدفمند به عنوان سامانه‌های رهایش دارو می‌توان به افزایش بازده دارورسانی و تقویت تأثیرگذاری دارو، کاهش مقدار داروی مورد نیاز برای دستیابی به هدف، پذیرش بهتر عامل درمانی توسط بدن بیمار، توانایی عبور ذرات از سامانه مویرگی، کاهش غلظت دارو در موقعیت‌های غیرهدف که منجر به کاهش اثرات جانبی خواهد شد، قابلیت هدف‌گیری مواضع مشخص در بدن و امکان رهایش کنترل‌شده دارو اشاره کرد(۴). از داروهای لیپوزومی می‌توان به مواردی از قبیل دانوروبیسین Daunorubicin (DaunoXome) که به عنوان داروی لیپوزومی دانوکسوم برای درمان تومورهای بدخیم سرطانی است و یا دوکسوروبیسین Doxurubicin (Mycet) که به عنوان داروی لیپوزومی دوکسیل در درمان سرطان‌های مختلف کاربرد دارد و موارد دیگری مانند آمفوتریپسین Amphotericin B (B) (AmBisome) به عنوان داروی لیپوزومی آمبیزوم درمان بیماری‌های قارچی، پاکلی تاکسل Paclitaxel (LEP-ETU) (با ظرفیت بارگذاری بالای دارو در دو لایه لیپوزومی حدود ۳/۵ درصد) در درمان سرطان سینه، تخمدان و هپاکسن HepaXen برای درمان بیماری هپاتیت و بسیاری از داروهای دیگر اشاره کرد(۵). لیپوزوم‌ها به‌عنوان حامل‌های دارویی در فرمولاسیون داروهای تزریقی به‌خصوص تزریق وریدی به‌کار می‌رود. هنگامی که قرار است از لیپوزوم به صورت فرآورده تزریقی استفاده شود، اگر اندازه لیپوزوم نامناسب باشد، مویرگ‌ها انسداد پیدا خواهد کرد. سامانه‌های که جهت انتقال دارو مناسب می‌باشند، اندازه‌ای کمتر از ۱۵۰ نانومتر دارند، همچنین نانوذرات نباید کوچکتر از ۵ نانومتر باشند زیرا توسط سیستم کلیه دفع می‌گردند(۶). در پژوهشی توسط محققین مرکز پژوهشی فناوری‌های نوین در مهندسی علوم زیستی دانشگاه تهران، اثر تغییر نسبت دارو/لیپید و ترکیب لیپیدی (نسبت فسفولیپید/کلسترول) بر اندازه نانولیپوزوم‌های پگیله شده‌ای حاوی دوکسوروبیسین بررسی گردید که اندازه نانولیپوزوم‌های حامل دارو با ۳ مرتبه هموژنایز کردن با استفاده از دستگاه همگن ساز تحت فشار بالا در حدود ۱۰۰ نانومتر به دست آمد(۷). مزایای کاربرد لیپوزوم‌ها در دارورسانی شامل: ۱- محافظت: مواد فعال از مواد دیگر به کمک سدی از دو لایه لیپیدی محافظت می‌شوند. ۲- کند

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

کردن آزادسازی: با کنترل ترکیباتی که در ساخت غشاء دو لایه به کار می‌روند می‌توان خصوصیات نفوذپذیری مواد را تغییر داد و در نهایت آزادسازی را کند کرد. ۳- کنترل آزادسازی: با تغییر در ترنزیشن فاز لیپیدی به کمک دما یا pH می‌توان آزادسازی را به صورت کنترل شده در آورد. ۴- درمان هدفمند: با طراحی اندازه یا شارژ سطحی لیپوزوم برای درمان هدفمند غیرفعال و بکارگیری آنتی‌بادی یا دیگر لیگاندها برای درمان هدفمند فعال به کار می‌رود. ۵- جذب سلولی: مکانیسم جذب لیپوزوم‌ها توسط سلول با اندوسیتوز یا فوزیون انجام می‌شود. این پدیده برای رساندن مواد ژنتیکی به داخل سلول مناسب می‌باشد(۸).

با توجه به ویژگی‌های سامانه‌های لیپوزومی در این طرح نیز ترکیب فلاونوئیدی ضدسرطانی سیلیبینین(Silibinin) با برهمکنش پیوند هیدروژنی با سر قطبی فسفولیپیدهای اشباع غشاء لیپیدی (فسفات و گروه آمین) همچون دی‌پالمیتول فسفاتیدیل کولین (DPPC: Dipalmitoyl-sn-glycero-phosphocholine) به منظور کاربرد در درمان سرطان کبد داخل نانولیپوزوم گیاهی (نانو فایتوزوم) بارگذاری گردید. بیشتر سرطان‌های اولیه کبد از هپاتوسیت‌ها (مهمترین سلول‌های کبدی) شروع می‌شوند. این نوع سرطان را کارسینوم هپاتوسلولار یا هپاتوم بدخیم می‌نامند که رایج‌ترین شکل سرطان کبد است. این سرطان جزء ۴ سرطان معمول منجر به مرگ در جهان می‌باشد که به سرعت در آمریکا در حال رشد است(۹). هپاتیت B عامل ۸۰٪ سرطان کارسینوم هپاتوسلولار در جهان می‌باشد(۱۰). ماده مؤثره گیاه خار مریم، ترکیب کمپلکس سیلیمارین می‌باشد که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی و خاصیت ضدویروسی با توانایی تحریک سیستم ایمنی است. در گیاهان دارویی متابولیت‌های ثانویه اگرچه اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی ساخت آنها به طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد(۱۱). در بررسی بالینی مکانیزم اثر سیلمارین در کنترل کارسینومای کبد روی رت‌های نر مشاهده شده است، سیلمارین با کاهش ماده ان-نیتروزودی اتیل آمین (N-nitrosodiethylamine) در کارسینومای در حال تکثیر سبب کنترل کارسینومای کبد می‌گردد(۱۲). در تحقیقاتی بر روی رت‌ها مشاهده گردید، ترکیب سیلیمارین دارای توانایی آنتی‌اکسیدانتی و اثر محافظت کننده از کبد در مقابل اثر تخریبی دی اتیل نیتروزامین(Diethyl nitrosamine) بر سلول‌های کبدی می‌باشد(۱۳). سیلیمارین به عنوان احیاکننده رادیکال‌های آزاد و پایدارکننده غشای سلولی و افزایش‌دهنده گلوتاتیون سلولی می‌باشد، گلوتاتیون مسئول مسمومیت‌زدایی و حذف رادیکال آزاد در بدن است(۱۴). سیلیمارین با تأثیر بر غشاء خارجی سلول‌های کبدی سبب جلوگیری از نفوذ مواد می‌گردد، همچنین با تأثیر بر افزایش سنتز پروتئین ریبوزومی نیز می‌تواند باعث ترمیم سلول‌های کبدی و ساخت مجدد آنها شود به طوری که باعث بهبود فعالیت کبدی خواهد شد(۱۵). همچنین در سال ۲۰۱۰ میلادی گیاه خارمریم جزء دسته گیاهان ایرانی با توان تحریک سیستم ایمنی معرفی شده است(۱۶). ترکیب سیلیمارین گیاه خار مریم دارای خاصیت ضدسرطانی و محافظتی از کبد می‌باشد و در مطالعات بالینی انجام شده درکنترل سرطان‌های مختلفی همچون: سرطان پوست، سرطان پروستات، کارسینومای کبد، سرطان کولون و ... مؤثر شناخته شده است(۱۷). این ترکیب خود به ۶ ماده اصلی دیگر تفکیک می‌گردد که شامل: Silybin A, Silydianin, Silychristin Silybin B, Isosilybin A, Isosilybin B, می‌باشد(۱۲). داروی پاکلیتاکسل((Paclitaxel (taxol) داروی میکروامولسیونی حاوی ترکیب سیلیمارین می‌باشد(۱۸). در سال ۲۰۱۱ میلادی در تحقیقی نانو حاملی بر پایه روغن به منظور بهبود رسانش سیلیمارین با بررسی در شرایط آزمایشگاهی و بالینی تهیه گردید که نانو حامل‌هایی با قطری بین ۴۰ تا ۷۰ نانومتر دارای توانایی خوبی در بهبود عملکرد زیست دارویی سیلیمارین بودند(۱۹). در تحقیقی دیگری حامل‌های لیپوزومی سیلیمارین با قطر متوسط ۷۰۰ نانومتر دارای عملکرد داروی بهتر در مقایسه با فرم پودری آزاد آن بود(۲۰). با توجه به آنکه پایداری ماده سیلیبینین به طور آزاد در خون

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

کم و جذب آن در بدن بسیار پایین می‌باشد، هدف از این تحقیق کپسوله کردن سیلیبینین در داخل نانولیپوزوم با اندازه و راندمان بارگذاری مناسب همراه با منحنی رهایش آهسته دارو می‌باشد که به منظور افزایش پایداری سیلیبینین و تجمع آن صورت می‌گیرد و می‌تواند در درمان سلول‌های سرطانی کبد کاربرد یابد.

روش بررسی

مواد مورد استفاده شامل: دی پالمیتول فسفاتیدیل کولین (Lipoid GmbH- Germany)، کلسترول(Cholesterol) (Sigma-Aldrich Co- USA)، پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ متصل به فسفولیپید(DSPE-mPEG2000) (Lipoid GmbH- Germany)، رنگ فلورسنت(DIL: Dioctadecyl tetramethylindocarbocyanine perchlorate) (Sigma-Aldrich Co- USA)، قند مالتوز(Maltose)، سیلیبینین (Sigma-Aldrich Co- USA)، بافر هپز(HEPES buffer) ۱۰ میلی‌مولار (pH=۵/۵) (Sigma-Aldrich Co- USA)، کیسه دیالیز(Spectra/Pore®Dialysis membrane) (جداسازی وزن مولکولی با ۱۴-۱۲ کیلو دالتون(12,000–14,000 molecular weight cut off)، (Spectrum Laboratories Inc- USA)، فیلتر ۰/۲۲ و ۰/۴۵، میکرومتر اتانول مطلق و آب دیونیزه بوده است.

جهت تهیه نانولیپوزوم حاوی سیلیبینین به روش آبدهی، فیلم نازک لیپیدی که روشی کلاسیک در تهیه وزیکول‌ها است، طبق روش El-Samaligy و همکاران و روش Archakov با تغییر و اصلاح انجام گردید(۲۰،۲۱). در این روش فیلم نازک لیپیدی با تبخیر آمفی فیل در حلال آلی تشکیل می‌شود. بعد از تماس فیلم نازک با آب، نمونه حل می‌شود و فاز وزیکولی شکل می‌گیرد. فرآیند تهیه نانولیپوزوم حاوی سیلیبینین شامل:

۱- اختلاط فاز لیپیدی و تشکیل فیلم نازک: الف- فاز لیپیدی شامل: (DPPC: CHOL: mPEG2000-DSPE: DIL) می‌باشد. در نمونه اصلی، فاز لیپیدی شامل:

فسفولیپید DPPC: کلسترول، فسفولیپید DSPE-MPEG2000 با نسبت مولی ۷: ۴: ۰/۳۶و ترکیب فلورسنت DIL با درصد مولی ۰/۰۹٪ به همراه ۱۵/۴ میلی‌گرم ماده دارویی سیلیبینین در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول خالص اضافه و حل گردیدند. با توجه به حداکثر بارگذاری و بهترین حالت آزادسازی (آهسته رهش) و بهترین حالت پایداری لیپوزوم برای ماده سیلیبینین در لیپوزوم، نسبت مولی فسفولیپید DPPC به کلسترول، طبق روش El-Samaligy و همکاران برابر با ۷ به ۴ انتخاب گردید. (در نمونه اصلی با نسبت تقریباً ۱۰ mg لیپید به ۱ml حلال اتانول تهیه شد)(۲۰). سپس فاز آلی محلول حاصل با استفاده از دستگاه تبخیرکننده دوار در دمای حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد و با دور تقریبی ۱۵۰rpm حذف گردید و فیلم نازک لیپیدی (به صورت ژلوز) تشکیل شد. همچنین جهت اطمینان از حذف کامل حلال، فیلم نازک لیپیدی چندین دقیقه با گاز نیتروژن هوادهی گردید.

۲- فاز آبی حاوی محلول قندی تهیه شده بدین منظور ۰/۲۸ گرم قند مالتوز به عنوان ماده محافظ سرمایی در ۶ ml بافر HEPES (۱۰mM) حل گردید.

۳- سپس بافر HEPES دارای ترکیب قندی برای هر نمونه به بالن ته گرد حاوی فیلم نازک لیپیدی اضافه گردید و کاملاً تکان داده شد. برای تهیه و تثبیت لیپوزوم حاوی فسفولیپید DPPC، نمونه‌ها به مدت ۶۰-۳۰ دقیقه قبل از ذخیره‌سازی در دمای ۵۱ درجه سانتی‌گراد که ۱۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای عبور فازی Phase Transition Temperature(TM) DPPC می‌باشد، نگه داشته شدند. بدین منظور بالن حاوی محلول فاز آبی به دستگاه تبخیرکننده دوار با دمای ۵۱ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۵۰rpmمتصل گردید.

نسبت وزنی دارو (سیلیبینین) به فاز لیپیدی به قند مالتوز برابر با ۰/۵ به ۲/۵ به ۹ انتخاب گردید، طبق روش Archakov با تغییر و اصلاح، نسبت ترکیب گیاهی به فسفاتیدیل کولین در فایتوزوم در این طرح ۱ به ۲/۵ تعیین گردید(۲۱). برای هیدراته شدن فیلم نازک، دما بالاتر از دمای عبور فازی لیپید قرار داده شد تا لایه نازک کاملاً در فاز آبی حل گردد و دائماً هم زده شد، در این دما اطمینان حاصل شود که تمام

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

فسفولیپیدها در محیط سوسپانسیون به طور هموژن مخلوط و با انعطاف‌پذیری کافی و در یک ردیف قرارگرفته و لیپوزوم‌ها تشکیل گردیده‌اند. همزمان با افزودن حجم زیادی از بافر آبی به لیپیدهای خشک درون بالن، سوسپانسیون حاوی لیپوزوم‌های چندلایه‌ای با ابعاد مختلف از ده‌ها میکرون تا چند دهم میکرون تشکیل شدند.

۴- برای کاهش اندازه لیپوزوم‌های بزرگ چندلایه و تشکیل لیپوزوم‌های تک لایه کوچک از روش سونیکه کردن استفاده گردید، برای کاهش سایز لیپوزوم‌های بزرگ چندلایه، پروب دستگاه سونیکه کننده در داخل محلول کلوئیدی لیپوزوم‌ها که داخل ظرف یخ بودند، قرار داده شد و سپس فرآیند سونیکه کردن جهت تولید لیپوزوم‌های تک جداره مطابق شرایط زیر انجام گردید. شرایط سونیکه کردن، توان: ۶۰٪ (Amplitude) به مدت ۱۰ دقیقه ۱۰ ثانیه روشن و ۱۵ ثانیه خاموش بود.

۵- قبل از فیلترکردن، ناخالصی و مواد اضافی نمونه‌ها (همچون تیتانیوم حاصل از سونیکاسیون) با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه از محلول لیپوزومی جداسازی شدند. سپس به منظور جداسازی ذرات با اندازه بزرگ‌تر از ذرات کوچک‌تر و همگن شدن محلول به دست آمده در مرحله پیش فیلترکردن از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر استفاده گردید و در آخر جهت استریل کردن، محلول از فیلتر با قطر حفرات ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شد.

محدوده توزیع اندازه ذرات با استفاده DLS: Dynamic Light Scattering تعیین می‌شود که بدین منظور از دستگاه نانو سایزر Brookhaven Instruments Corp (USA) استفاده گردید. اندازه‌گیری نانولیپوزوم‌ها در یک زاویه ۹۰ درجه و تابش نور لیزر با طول موج ۶۵۷nm در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. همچنین اندازه‌گیری نمونه‌ها در ۵ مرتبه و هر مرتبه با مدت زمان ۳۰ ثانیه انجام گردید. جهت تعیین اندازه از ۶۰۰ میکرولیتر نمونه با غلظت ۰/۵mgr/ml تا ۰/۱ استفاده گردید.

جهت تعیین پتانسیل زتا نانولیپوزوم‌ها، میزان بار سطحی و پتانسیل زتانانولیپوزوم‌های حامل دارو با استفاده از دستگاه زتا سایزر شرکت Brookhaven Instruments Corp (USA) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید. برای تعیین بار سطحی از ۱۵۰۰ میکرولیتر نمونه با غلظت ۰/۱ mgr/ml استفاده گردید.

از نانولیپوزوم‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونیکی (SEM) (KYKY-EM3200-30KV- China) به منظور بررسی شکل و ساختار نانولیپوزوم‌های تولیدی حامل دارو تصویر گرفته شد. همچنین جهت بررسی چندلایه بودن و ساختار غشاء نانولیپوزوم، تصاویری با استفاده از میکروسکوپ الکترونیکی انتقالی (TEM, 150 KV) با توان ۱۵۰ کیلو ولت تهیه گردید.

گروه‌های عاملی سطح نانولیپوزوم تولید شده توسط آنالیز طیف سنجی مادون قرمز (IR) بررسی گردید. در طیف مادون قرمز عمدتاً دو ناحیه مورد توجه است. ناحیه گروه عاملی از ۱۵۵۰cm-1 تا ۴۰۰۰، ناحیه‌ای است که بیشتر کشش‌های پیوندی اتفاق می‌افتد. این ناحیه معمولاً تعداد نسبتاً کمی پیک دارند اما بسیاری از پیک‌های آن مشخص‌کننده گروه‌های عاملی هستند. برای اطمینان از نبود داروی آزاد و مواد اضافی در نمونه نانولیپوزوم از نمونه دیالیز شده نانولیپوزوم‌ها استفاده گردید و به منظور کاهش رطوبت، حدود نیم ساعت نمونه در آون با دمای تقریبی ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

برای انتخاب طول موج مناسب در آنالیز میزان غلظت ترکیب دارویی با روش HPLC، ابتدا طول موجی که دارای حداکثر جذب به وسیله ترکیب سیلیبینین در حلال (بافر HEPES با متانول به نسبت ۲:۱) می‌باشد، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS اندازه‌گیری و تعیین گردید.

جهت تعیین میزان داروی بارگذاری شده به روش HPLC، ابتدا با فرآیند دیالیز، داروهای آزاد از نانولیپوزوم‌ها جداسازی شدند. بدین منظور داخل کیسه دیالیز آماده شده (جداسازی وزن مولکولی با ۱۴-۱۲ کیلو دالتون) حدود ۲ میلی‌لیتر از محلول نانولیپوزوم ریخته شد و دو سر کیسه محکم بسته

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

گردید و سپس کیسه دیالیز داخل ۲۰۰ میلی‌لیتر بافر HEPES ۱۰ میلی‌مولار قرار داده شد و در چهار مرحله با تعویض بافر و به همراه همزن مغناطیسی دیالیز گردید که مدت زمان مرحله اول: ۲ ساعت، مرحله دوم: ۲ ساعت، مرحله سوم: ۱۲ ساعت و مرحله چهارم: ۲ ساعت بوده است و در مرحله چهارم جهت تعویض بافر به آن قند مالتوز نیز اضافه گردید. بعد از فرآیند دیالیز ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نانولیپوزوم دیالیز شده فاقد داروی آزاد در ۲۰۰ میکرولیتر متانول مخلوط شد و حدود ۵ دقیقه ورتکس گردید. سپس حدود ۱۰ دقیقه نیز با توان ۸۰٪ با قرار دادن پروب داخل حمام آب و بیرون از نمونه سونیکیت انجام گرفت، سپس از نمونه حاصل مستقیماً جهت تعیین داروی بارگذاری شده سیلیبینین، آنالیز HPLC انجام گرفت.

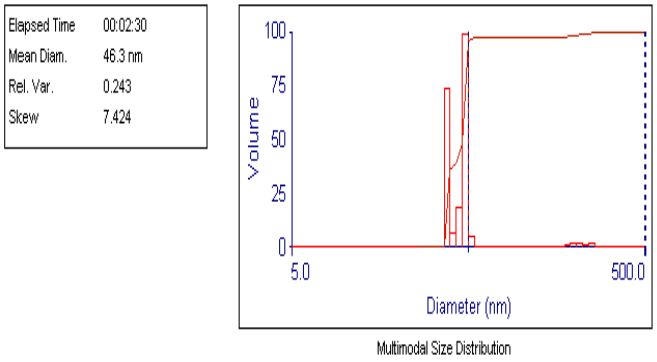
شرایط HPLC جهت تعیین غلظت داروی سیلیبینین در نانولیپوزوم طبق روش Park و همکاران و روش Ren و همکارش اصلاح شده با تغییر انجام شد(۱۸،۲۲) که از فاز متحرک شامل: ۵۱٪ استونیتریل- ۴۹٪ فسفوریک اسید ۰/۱ درصد و شدت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و طول موج جذب ۲۴۰ نانومتر و ستون C۱۸ استفاده گردید. سپس بر اساس غلظت اولیه و معادله زیر، درصد بارگذاری ترکیب دارویی محاسبه گردید:

$$\text{درصد راندمان بارگذاری دارو} = \frac{\text{مقدار داروی بارگذاری شده} \times ۱۰۰}{\text{کل مقدار داروی اضافه شده}}$$

جهت تعیین میزان رهایش ترکیب دارویی سیلیبینین، ۱ میلی‌لیتر از نانولیپوزوم‌های تولیدی با غلظت اولیه که با توجه به درصد بارگزاری، حاوی ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سیلیبینین می‌باشد را در یک کیسه دیالیز (جداسازی وزن مولکولی با ۱۴-۱۲ کیلو دالتون) با عرض ۲/۵ سانتی‌متر ریخته شد و در ۵۰ میلی‌لیتر بافر HEPES ۱۰mM در بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری قرار گرفت و سپس با دور ۱۰۰ rpm با شیکر (و یا منگنت) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد (شرایط دمای بدن) هم زده شد و بعد از مدت زمان ۱-۲-۴-۶-۱۵-۱۸-۲۱-۲۴-۴۸-۶۶-۶۹-۷۲-۷۵ ساعت، به میزان ۲۰۰ میکرولیتر با ۳ تکرار از محلول را برداشته و به روش HPLC (با شرایط تعیین داروی بارگذاری شده) میزان غلظت ترکیب دارویی اندازه‌گیری گردید. سپس غلظت به دست آمده در عدد ۵۰ ضرب شد و از مقدار به دست آمده نسبت به غلظت اولیه درصد رهایش محاسبه گردید. همچنین در هر بار اندازه‌گیری به مقدار نمونه برداشته شده، بافر HEPES اضافه گردید(۲۰).

نتایج

اندازه نانولیپوزوم‌های تولیدی حاوی ترکیب دارویی که به روش سونیکه کردن (با توان:۶۰ ٪ Amplitude) کاهش اندازه داده شده‌اند به طور میانگین با استفاده از دستگاه نانو سایزر با مد حجمی و با مد تعداد اندازه‌گیری گردیدند (جدول ۱، شکل ۱).



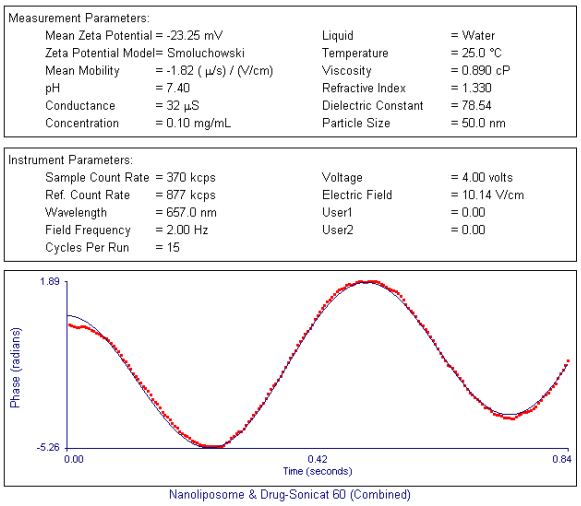
شکل ۱: نمودار اندازه نانو لیپوزوم های حامل دارو با مد حجمی

جدول ۱: میانگین اندازه نانولیپوزوم‌ها با مد حجمی و تعداد

مد تعداد (نانومتر)	مد حجمی (نانومتر)	سونیکه کردن با توان ۶۰٪ (Amplitude)
۴۱/۹	۴۶/۳	نانو لیپوزوم حامل ترکیب دارویی

پتانسیل زتا سطح نانولیپوزوم‌های تولیدی حاوی دارو که به روش سونیکه کردن (با توان: ۶۰٪ Amplitude) کاهش اندازه داده شده‌اند، به طور میانگین با استفاده از دستگاه زتا سایزر اندازه‌گیری گردید که در جدول و شکل ۲ نشان داده شده است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

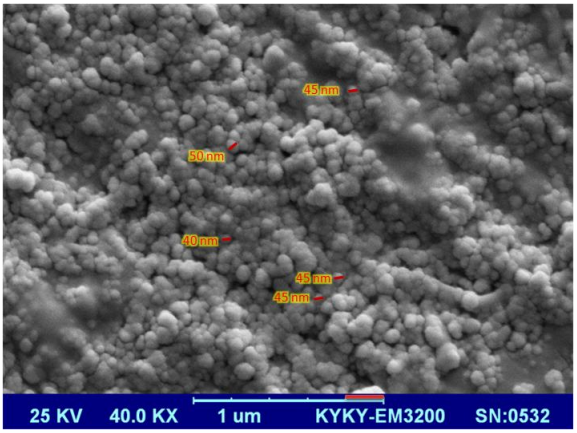


شکل ۲: پتانسیل زتا نانولیپوزوم‌های حاوی ترکیب دارویی

جدول ۲: میانگین اندازه و بار سطحی نانو لیپوزوم حامل دارو

بار سطحی (پتانسیل زتا)	اندازه با مد حجمی (نانومتر)	سونیکه کردن با توان ۶۰٪ (Amplitude)
-۲۳/۲۵	۴۶/۳	نانو لیپوزوم حامل دارو

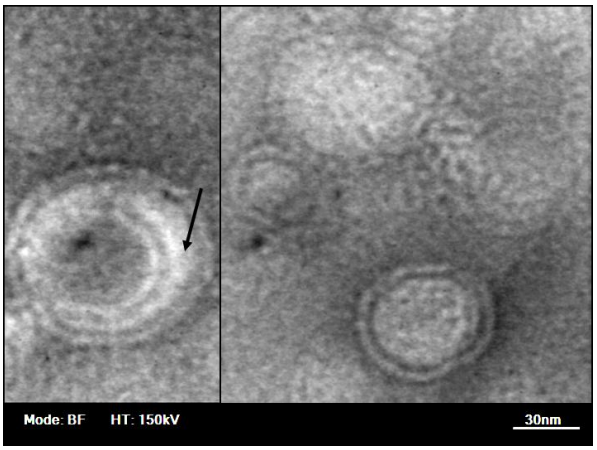
در تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونیکی (SEM) (با توان ۲۵ کیلو ولت) نانولیپوزوم‌های تولیدی حامل دارو دارای اشکال کروی و ساختاری یکنواخت بودند. در تصویر گرفته شده با میکروسکوپ SEM اندازه میانگین قطر ۵ نانولیپوزوم در حدود ۴۵ نانومتر تعیین گردید (شکل ۳) که با نتایج حاصل از روش DLS مطابقت داشت.



شکل ۳: تصویر SEM نانو لیپوزوم حاوی دارو (با بزرگنمایی ۴۰۰۰۰ برابر)

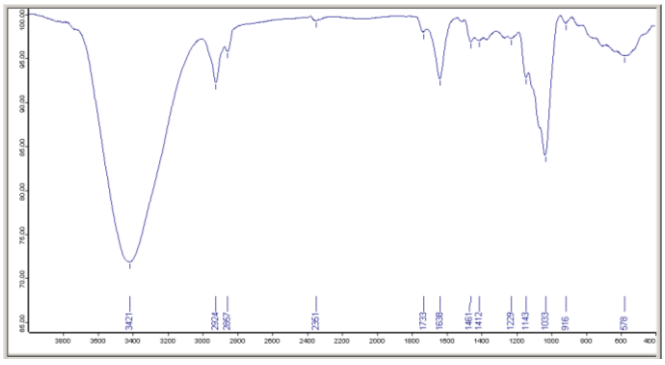
دو لایه بودن غشاء و ساختار کروی نانو لیپوزوم‌های حامل دارو در تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونیکی انتقالی (TEM) (با توان ۱۵۰ کیلو ولت) مشاهده گردید.

در تصاویر(TEM)، اندازه نانو لیپوزوم‌های حامل دارو عموماً بین ۳۰ تا ۵۰ نانو متر مشاهده گردید که با نتایج تعیین اندازه با روش DLS و تصاویر SEM مطابقت نمود (شکل ۴).



شکل ۴: تصاویر TEM از نانو لیپوزوم حاوی سیلیبینین
(تجمع دارو در غشاء داخلی لیپوزوم‌ها با فلش نشان داده شده است)

در شکل ۵ طیف دستگاه طیف سنجی مادون قرمز از نانو لیپوزوم حاوی داروی سیلیبینین نشان داده شده است.

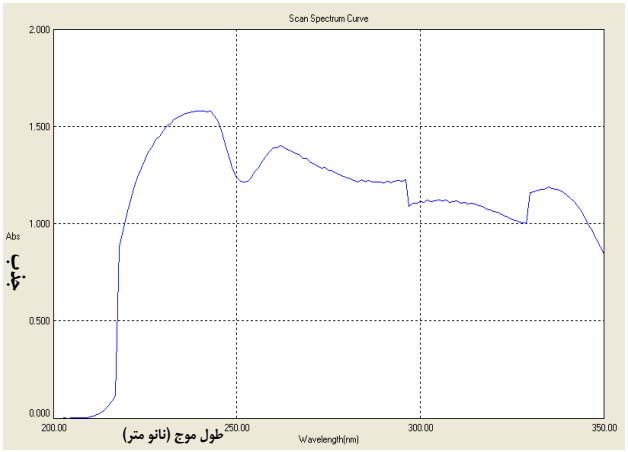


شکل ۵: طیف سنجی مادون قرمز از نانو لیپوزوم حاوی سیلیبینین

ابتدا طول موجی که دارای حداکثر جذب به وسیله ترکیب سیلیبینین در حلال (بافر HEPES با متانول به نسبت ۲:۱)

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

می‌باشد، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS اندازه گیری و تعیین گردید. در جدول ۳ نشان داده شده است که سیلیبینین در طول موج ۲۴۰ نانومتر حداکثر جذب را در حلال (بافر HEPES با متانول به نسبت ۲:۱) دارد که به عنوان طول موج دارای حداکثر جذب برای این ترکیب انتخاب گردید(شکل ۶ و جدول ۳).



شکل ۶: نمودار تعیین طول موج دارای حداکثر جذب توسط سیلیبینین

جدول ۳: طول موج‌های دارای جذب توسط سیلیبینین

جذب	طول موج (نانو متر)	P-Value
۱/۱۹۱	۳۳۵	۱
۱/۴۰۵	۲۶۲	۲
۱/۵۸۲	۲۴۰	۳

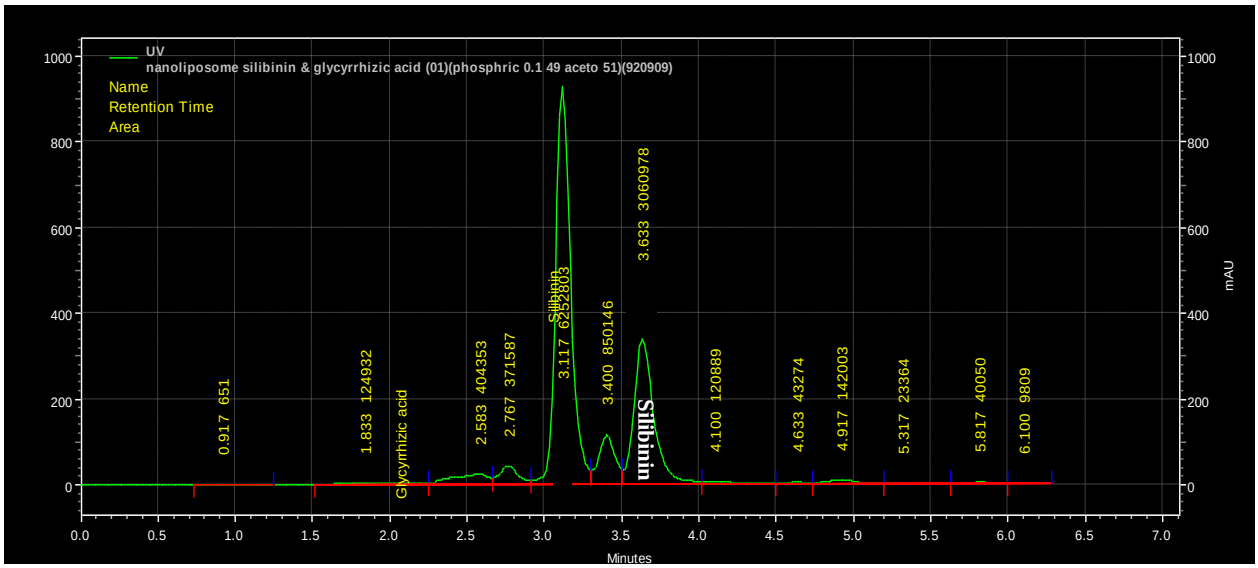
درصد بارگذاری ترکیب دارویی سیلیبینین در نانولیپوزوم تولیدی به میزان ۲۴/۳۷٪ محاسبه گردید(شکل ۷)، محاسبات در زیر ارائه گردیده است:

غلظت اولیه ترکیب دارویی مورد استفاده در تهیه نانولیپوزوم برابر گردید با: ۲/۵۶ mgr/ml = ۶ ÷ ۱۵/۴

غلظت داروی بارگذاری شده= ۳ × غلظت تعیین شده با HPLC

غلظت سیلیبینین بارگذاری شده= ۳ × ۰/۲۰۸ =mgr/ml ۰/۶۲۴

درصد بارگذاری سیلیبینین =۱۰۰× (۲/۵۶ ÷ ۰/۶۲۴) = ٪۲۴/۳۷

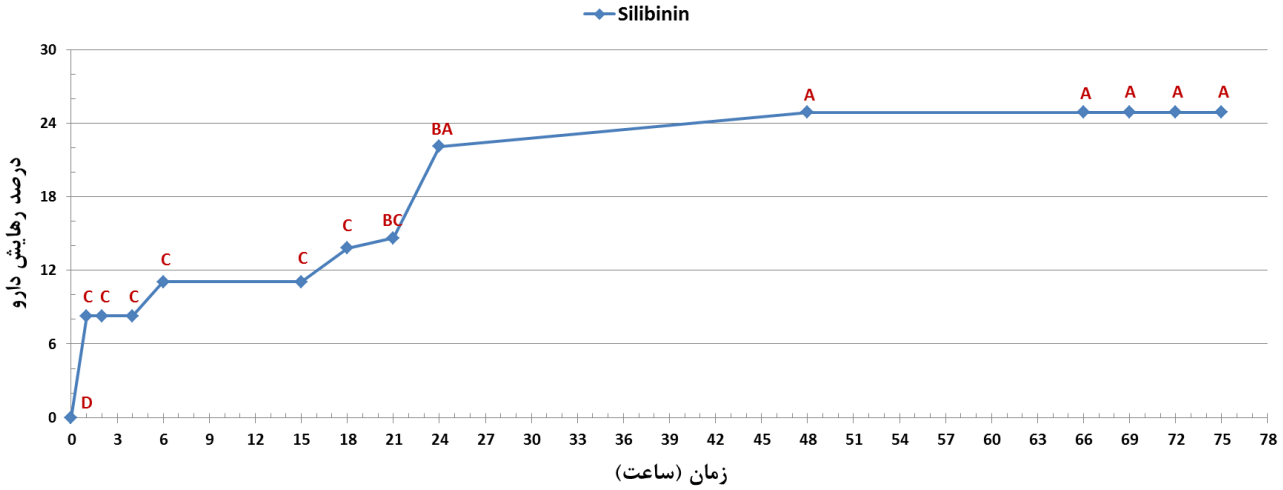


شکل ۷: منحنی تعیین میزان سیلیبینین بارگذاری شده (با یک سوم غلظت) در نمونه نانولیپوزوم تولیدی حامل دارو با روش HPLC

میزان میانگین رهایش ترکیب دارویی به روش HPLC با سه تکرار در سطح ۰/۰۵ اندازه‌گیری گردید. منحنی رهایش به دست آمده برای نمونه نانولیپوزوم تولیدی حامل ترکیب سیلیبینین به صورت آهسته رهش می‌باشد (شکل ۸). در این بررسی نمونه نانولیپوزوم فاقد ترکیب دارویی به عنوان گروه کنترل تعیین گردید که با گذشت زمان فاقد رهایش دارو

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

می‌باشد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات بر اساس آزمون دانکن و حداقل تفاوت معنی‌دار (P < ۰/۰۵) و با مدل خطی نرم افزار SAS، (SAS 9.1 SAS institute, Cary, NC) انجام گرفت. مقادیر میانگین تیمارها که در جدول ۴ با حروف غیریکسان نشان داده شده‌اند، بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۸: منحنی رهایش داروی گیاهی سیلیبینین از نانولیپوزوم

جدول ۴: درصد رهایش داروی گیاهی سیلیبینین بارگذاری شده از نانولیپوزوم با گذشت زمان

میانگین درصد رهایش ترکیب سیلیبینین (٪۵)*	زمان (ساعت)
۰ D	کنترل
۸/۲۹ C	۱
۸/۲۹ C	۲
۸/۲۹ C	۴
۱۱/۰۵ C	۶
۱۱/۰۵ C	۱۵
۱۳/۸۱ C	۱۸
۱۴/۶۴ BC	۲۱
۲۲/۱۰ BA	۲۴
۲۴/۸۷ A	۴۸
۲۴/۸۷ A	۶۶
۲۴/۸۷ A	۶۹
۲۴/۸۷ A	۷۲
۲۴/۸۷ A	۷۵

* اعداد ستون که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ فاقد اختلاف معنی‌دار هستند. (هر عدد میانگین سه تکرار است)

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

نتیجه‌گیری

امروزه نانولیپوزوم‌ها با داشتن تاییدیه اداره دارو و غذای آمریکا (FDA) بیشترین نانو حامل‌های مورد استفاده در کاربردهای بالینی برای انتقال داروها در بدن می‌باشند(۵،۲۳). با توجه به آنکه سرطان کبد جزء ۳ سرطان معمول منجر به مرگ در جهان می‌باشد(۲۴)، یافتن راهکار درمانی مناسب برای رایج‌ترین شکل سرطان کبد که کارسینوم هپاتوسلولار یا هپاتوم بدخیم می‌باشد، دارای اهمیت بسزایی است. بر اساس تحقیقات مختلف انجام شده، ترکیب سیلیبینین که ماده مؤثره گیاه دارویی خارمریم است، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و تحریک‌کننده سیستم ایمنی می‌باشند(۱۳،۱۶) و به دلیل آنکه ویروس هپاتیت نیز از عوامل اصلی ایجاد سرطان کبد معرفی شده است، مواد مؤثره گیاه دارویی خارمریم می‌تواند دارای نقش مؤثری در درمان سرطان کبد داشته باشد. شناسایی نانو حامل مناسب با ویژگی مقدار بارگذاری مناسب دارو، رهایش آهسته، ماندگاری بالای ترکیب دارویی در سیستم گردش خون و سمیت پایین برای رسانش ترکیب دارویی مورد نظر اهمیت بالایی دارد. سیلیبینین و سایر ترکیبات سیلیمارین به صورت آزاد سریعاً با سولفات و گلوکورونیک اسید در کبد متصل می‌گردند. این اتصال سبب برگرداندن آنها به پلاسما و کیسه صفرا می‌گردد. به طوری که حدود ۸۰ درصد از دوز از ترکیبات سیلیمارین از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردد(۲۵). با توجه به پایداری و ماندگاری کم ترکیب آزاد سیلیبینین در بدن(۲۶) استفاده از نانولیپوزوم به عنوان حامل برای انتقال ترکیب سیلیبینین به سلول‌های سرطانی کبد می‌تواند نقش مهمی در پایداری این دارو در بدن ایفا نماید. ترکیب فلاونوئیدی سیلیبینین از کمپلکس سیلیمارین در آب غیرمحلول بوده و به همراه فسفاتیدیل کولین تشکیل ترکیبی به نام سیلیپید می‌دهد که می‌تواند با هدفمندی غیرفعال در کبد تجمع یابد(۲۷). در سال ۲۰۱۱ میلادی در تحقیقی نانو حاملی بر پایه روغن به منظور بهبود رسانش سیلیمارین با بررسی در شرایط آزمایشگاهی و بالینی تهیه گردید که نانو حامل‌هایی با قطری بین ۴۰ تا ۷۰ نانومتر دارای توانایی خوبی در بهبود عملکرد زیست دارویی سیلیمارین بودند(۱۹). در تحقیقی دیگری حامل‌های لیپوزومی سیلیمارین با قطر متوسط ۷۰۰ نانومتر دارای عملکرد داروی بهتر در مقایسه با فرم پودری آزاد آن بودند(۲۰). مزیت این تحقیق نسبت به تحقیقات گذشته در این است که ترکیب گیاهی سیلیبینین که ماده مؤثره اصلی کمپلکس سیلیمارین می‌باشد به جای سیلیمارین در بخش غشاء نانو سامانه جدید فیتولیپوزومه پگیله حاوی فسفولیپیدهای DPPC با راندمان مناسب بارگذاری گردیده است به طوری که دارای منحنی رهایش آهسته و بار سطحی کمتر از ۲۳- و اندازه میانگین قطر ۴۶/۳ نانومتر می‌باشد که می‌تواند در افزایش پایداری دارو در بدن جهت رسانش به سلول‌های سرطانی کبد، کاربرد یابد. همچنین در این پژوهش، فسفولیپیدها نیز که اجزای اصلی این نانولیپوزوم تولید شده را تشکیل می‌دهند، موادی زیست تخریب پذیر و عموماً غیرسمی می‌باشند که در تمامی غشاءهای زیستی موجودات زنده اغلب وجود دارند. همچنین پلیمر PEG مورد استفاده شده در سطح این حامل، پلیمری زیست‌سازگار است که در تحقیقی نشان داده شد بکارگیری آن، زمان نیمه عمر لیپوزوم حاوی یک داروی ضدتومور را در پلاسما تا هشت برابر افزایش داده است(۳). با توجه به ویژگی‌های ارزشمند نانو سامانه لیپوزومی حامل داروی سیلیبینین تولید شده در این تحقیق، همچون زیست سازگاری با بدن، اندازه مناسب زیر ۵۰ نانومتر و داشتن منحنی آهسته رهش دارو، این سامانه می‌تواند راهکاری مؤثر در افزایش پایداری این دارو در بدن و درمان سرطان کبد در آینده‌ای نزدیک باشد.

سپاسگزاری

ضمن تشکر و سپاس از خداوند متعال به جهت انجام این طرح، از حمایت مرکز پژوهشی فناوری‌های نوین در مهندسی علوم زیستی دانشگاه تهران و همکاری محققان این مرکز در این طرح، قدردانی نموده و توفیق روزافزون الهی مسئلت می‌گردد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

References:

1- Wagner V, Dullaart A, Bock AK, Zweck A. ***The emerging nanomedicine landscape***. Nat Biotech 2006; 24(10): 1211-17.

2- Kievit FM, Zhang M. ***Cancer nanotheranostics: improving imaging and therapy by targeted delivery across biological barriers***. Adv Mater 2011; 23(36): H217-47.

3- Cheng J, Teply BA, Sherifi I, Sung J, Luther G, Gu F X, et al. ***Formulation of functionalized PLGA–PEG nano particles for in vivo targeteddrug delivery***. Biomaterials 2007; 28(5): 869-76.

4- Goldberg M, Langer R, Jia X. ***Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering***. J Biomater Sci Polymer Edn 2007; 18(3): 241-68.

5- Weissig V. ***Liposomes methods and protocols volume 1: pharmaceutical nanocarriers***. (Springer Protocols, Methods in Molecular Biology) Department of Pharmaceutical Sciences; 2010. Midwestern University College of Pharmacy Glendale, Glendale, AZ, USA. 1-50.

6- Wang AZ, Gu F, Zhang L, Chan JM, Radovic-Moreno A, Shaikh MR, et al. ***Biofunctionalized targeted nanoparticles for therapeutic applications***. Expert. Opin Biol Ther 2008; 8(8): 1063-70.

7- Gholamaalian Dehaghani M, Amoabediny Gh, Ochi-Ardebili MM. ***Investigation of the phospholipid/ cholesterol ratio parameters on the size of nanoliposomal anti-cancer drug (Doxorubicin as a model)***. 5th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology (ISI); Shahid Sadoughi University of Medical Sciences; Yazd, Iran; 2013.

8- Crommelin DJA, Bos GW, Storm G. ***Liposomes–successful carrier systems for targeted delivery of drugs, drug delivery peptides, proteins & liposomes.*** Business Briefing Pharmatech; 2003.p. 209-13.

9- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. ***Cancer statistics***. CA: A Cancer Journal for Clinicians 2012; 62(1): 10-29.

10- CanLiv. ***Hepatobiliary cancers statistics.*** The Hepatobiliary Cancers Foundation, Charleston, SC; 2012.

11- Ochi-Ardebili M M, Ahmadzadeh M, Sharifi-Tehrani A. ***Modern process of increase rosmarinic acid active substance of Rosemary medicinal plant by fluorescent pseudomonads probiotic bacteria***. 5th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology (ISI); Shahid Sadoughi University of Medical Sciences; Yazd, Iran; 2013.

12- Kaur M, Agarwal R. ***Silymarin and epithelial cancer chemoprevention: how close we are to bedside?***. Toxicology and Applied Pharmacology 2007; 224(3): 350-59.

13- Pradeep K, Nohan CV, Gobianand K, Karthikeyan S. ***Silymarin modulates the oxidant–antioxidant imbalance during diethylnitrosamine induced oxidative stress in rats***. Eur J Pharmacol 2077; 560(2-3): 110-16.

14- De Mattia G, Bravi MC, Laurenti O, Cassone-Faldetta M, Armiento A, Ferri C, et al. ***Influence of reduced gluthatione infusion on glucose***. Metabolism 1998; 47(8): 993-97.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

15- PeHit J. ***Alternative medicine: milk thistle***. Clinician Reviews; 2000. 10 (10): 72-74.

16- Alamgir M, Uddin J. ***Recent advances on the ethnome dicinal plants as immunomodu latory agents***. Ethnomedicine 2010: 227-44.

17- Lee JI, Narayan M, Barrett JS. ***Analysis and comparison of active constituents in commercial standardized silymarin extracts by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry***. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2007; 845(1): 95-103.

18- Park JH, Park JH, Hur HJ, Woo JS, Lee HJ. ***Effects of silymarin and formulation on the oral bioavailability of paclitaxel in rats***. Eur J Pharm Sci 2012; 45(3): 296-301.

19- Parveen R, Baboota S, Ali J, Ahuja A, Vasudev SS, Ahmad S. ***Oil based nanocarrier for improved oral delivery of silymarin:in vitro and in vivo studies.*** Int J Pharm 2011; 413(1-2): 245-25.

20- El-Samaligy MS, Afifi NN, Mahmoud EA. ***Increasing bioavailability of silymarin using a buccal liposomal delivery system: preparation and experimental design investigation***. Int J Pharm 2006; 308(1-2): 140-48.

21- Archakov AI (RU). ***International patent (PCT) of Medicinal forms of phospholipid preparations and methods for their preparation***. International Publication Number:WO 2007/020505 A2; 2007.

22- Ren P, Sun G. ***HPLC determination of glycyrrhizic acid and glycyrrhetinic acid in Fuzilizhong Pills***. Asian Journal of Traditional Med 2008; 3(3): 110-16.

23- Torchilin VP. ***Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers***. Nature reviews, drug discovery, February 2005; 4(2): 145-60.

24- Jin C, Yang W, Bai L, Wang J, Dou K. ***Preparation and characterization of targeted DOX–PLGA–PEG micelles decorated with bivalent fragment HAb18 F(ab')2 for treatment of hepatocellular carcinoma***. Journal of Control Release 2011; 152 Suppl 1: e14-15.

25- Fraschini F, Demartini G, Esposti D. ***Pharmacology of Silymarin***. Clin Drug Invest; 2002; 22 (1): 51-65.

26- Song Y, Zhuang J, Guo J, Xiao Y, Ping Q. ***Preparation and properties of a silybin-phospholipid complex***. Pharmazie 2008; 63(1): 35-42.

27- Agarwal R, Agarwal C, Ichikawa H, Singh RP, Aggarwal BB. ***Anticancer potential of silymarin: from bench to bed side***. Anticancer Res 2006; 26(6B): 4457-98.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

Design and Preparation of Encapsulated Nano-Liposome Controlled Release including Silibinin Anti-Cancer Herbal Drug (Nano Phytosome)

Ochi Ardebili MM(PhD student)[1], Amoabediny Gh(PhD)[*2], Rezayat SM(PhD)[3], Akbarzadeh A(PhD)[4], Ebrahimi B(PhD)[5]

[1]Department of Nano Biotechnology, Research center for new technologies in life science engineering, University of Tehran, Tehran, Iran

[2]Department of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Research center for new technologies in life science engineering, University of Tehran, Tehran, Iran

[3]Department of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[4]Department of Nanobiotechnology, Pasteur Institute of Iran (IPI), Tehran, Iran

[5]Department of life Science Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 10 Nov 2014 ***Accepted:*** 26 Feb 2015

Abstract

Introduction: Nano-liposomes are Nano particulate vesicles with lipoid membrane which are under extensive investigation as drug carriers for improving the delivery of therapeutic agents. This study intended to enhance efficacy of Silibinin herbal drug in Nano liposome system (Nano phytosome) via encapsulation for delivery to liver cancer cells. Silibinin is one of the anti-cancer drugs, which its antitumor efficacy is primarily attributed to decreasing N-nitrosodiethylamine in hepatocit carcinoma cells. Nano Liposome encapsulation of Silibinin can dramatically improve its biological activity and increase stability of Silibinin in blood.

***Methods*:** Small uni-lamellar (SUV) vesicles entrapping Silibinin were prepared using DiPalmitoyl PhosphatidylCholine (DPPC), cholesterol: DSPE-MPEG2000 at 7:4:0.36 molar ratio , the fluorescent label (DIL) incorporated in the lipid bilayer at 0.09 mol % as lipophilic phase and buffer of HEPES as hydrophilic phase. Moreover, Nano Liposome size, Zeta-potential, encapsulation efficiency and release of drug were determined after Nano Liposome production .

Results: The study results demonstrated that mean nano-liposome diameter was 46.3 nm. The size and structure of Nano-liposomes were analyzed by SEM and TEM images. The zeta potential of the encapsulated Nano-liposomes was shown -23.25. The encapsulation efficiency for Silibinin was about 24.37%.

***Conclusion*:** In this study, silibinin drug encapsulated nano-liposome controlled release system to improve the solubility and bioavailability of silibinin for delivery to liver cancer cells.

***Keywords*:** Encapsulation; Liver cancer; Nano liposome; Silibinin

This paper should be cited as:

Ochi Ardebili MM, Amoabediny Gh, Rezayat SM, Akbarzadeh A, Ebrahimi B. ***Design and preparation of encapsulated nano-liposome controlled release including silibinin anti-cancer herbal drug (nano phytosome)***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23(3): 2000-12.

Corresponding author: Tel: +98 2166408808, Email: amoabediny@ ut.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]