مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۴، شماره ۱۰، دی ۱۳۹۵
صفحه: ۷۸۹-۷۸۰

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 24, No.10, Jan 2017
Pages: 780-789

ارائه رویکردی نوین جهت سنتز، درون‌گیری داروهای آب دوست و ارزیابی فیزیکوشیمیایی نانوسامانه لیپوزومی حساس به pH؛ بهبود کارایی درمانی داروی دوکسوروبیسین با هدف اثر گذاری بر درمان سرطان استخوان و کاهش اثرات جانبی دوکسوروبیسین

بی بی فاطمه حقیرالسادات [۱]، قاسم عموعابدینی* [۲]، محمدحسن شیخها [۳]
جواد محمدنژاد [۴]، سمیرا نادری‌نژاد [۵]، زهرا ملائی بلاسی [۶]، بهروز زندیه دولابی [۷]

چکیده

مقدمه: سرطان یکی از زیان‌بارترین بیماری‌ها در جهان است. داروی دوکسوروبیسین یک عامل ضدسرطان است که در درمان سرطان‌های مختلف ازجمله سرطان استخوان کاربرد دارد، اما با وجود خواص درمانی در دراز مدت عوارض جانبی متعددی را در پی دارد. در این پژوهش با هدف کاهش عوارض جانبی و بهبود و افزایش اثر درمانی از حامل لیپوزومی استفاده شده است.

روش بررسی: لیپوزوم‌های حاوی DPPG و کلسترول با نسبت ۷۰:۳۰ به همراه داروی دوکسوروبیسین با روش شیب pH گرادیان تهیه شدند. میانگین قطر نانوذرات و بار سطحی با استفاده از دستگاه زتا سایزر تعیین گردید، همچنین میزان بارگذاری و رهایش دارو از نانولیپوزوم‌ها با استفاده از روش دیالیز تعیین شد. همچنین مورفولوژی سطحی و تعداد لایه‌های درونی به وسیله SEM و TEM بررسی شد.

نتایج: با استفاده از دستگاه زتا سایزر میانگین قطر لیپوزوم حاوی دوکسوروبیسین ۱۲۶ نانومتر به دست آمد. راندمان بارگذاری دارو دوکسوروبیسین نانولیپوزومه ۸۹ درصد به دست آمد. با استفاده از روش دیالیز میزان رهایش دارو طی ۴۸ ساعت در شرایط اسیدی ۴۶ درصد است. نانو ذرات به صورت کروی و دولایه می‌باشند.

نتیجه‌گیری: طراحی سامانه آهسته رهش حساسیت به pH، باعث کاهش آسیب رساندن داروی دوکسوربیسین به سلول‌های سالم، ضمن افزایش دسترسی زیستی و اثرات سمی در مقابل سلول‌های سرطانی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سرطان، استئوسارکوما، خصوصیت‌یابی، دوکسوروبیسین، نانو لیپوزوم، حساس به pH

۱- دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران
۲- دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی و داروسازی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تهران
۳- استاد، مرکز پژوهشی بیوتکنولوژی، پردیس بین الملل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۴- استادیار، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران
۵- کارشناسی ارشد مهندسی بیو تکنولوژی، گروه مهندسی بیوتکنولوژی و داروسازی، دانشکده مهندسی شیمی، پردیس دانشکده های فنی، دانشگاه تهران
۶- کارشناسی ارشد مهندسی شیمی- بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه اصفهان
۷- استاد، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و آناتومی کاربردی، مرکز تحقیقاتی آکتا، دانشگاه UV آمستردام، هلند
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۳۲۵۰۷۱۵۸، پست الکترونیکی: amoabediny@ut.ac.ir

تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

مقدمه

از بزرگ‌ترین مشکلات سلامتی در نقاط مختلف جهان می‌توان به بیماری سرطان اشاره کرد (۱). بر پایه آخرین تحقیقات، در سال ۲۰۲۰، سرطان از نظر درجه شیوع، به بیماری اول در جهان تبدیل خواهد شد. همان‌گونه که اثبات شده است، ساختار بدن حاصل انواع مختلفی از سلول است و در حالت طبیعی، رشد سلول‌ها و تقسیم آن‌ها جهت تولید و تکثیر، زمانی رخ می‌دهد که بدن نیازمند آن باشد و همین فرایند در سلامتی بدن نقش مهمی را ایفا می‌کند، گاهی تقسیم سلول‌ها در زمانی رخ می‌دهد که نیازی به آن‌ها نیست، لذا این سلول‌های اضافی، توده عظیمی از بافت را تشکیل می‌دهند که تومور نامیده می‌شود. در نتیجه سرطان بر اثر نقص در ساز و کار رشد و تکثیر سلول‌ها به وجود می‌آید که این نقص خود می‌تواند بر اثر اختلالات ژنتیکی ایجاد شود. با توجه به اینکه سرطان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در کشورهای صنعتی است که درمان‌های رایج آن غیراختصاصی بوده و اثربخشی آن‌ها محدود می‌باشد، بنابراین در صورت عدم تشخیص و درمان به موقع می‌تواند موجب مرگ بیمار شود (۲). سرطان استخوان یک نوع بسیار سخت و جدی از سرطان است و زمانی اتفاق می‌افتد که سلول‌های استخوان‌ساز دچار مشکل شوند. این سرطان در کودکان و نوجوانان شایع‌تر است و سرطان استخوان متاستاتیک در بزرگ‌سالان شایع‌تر است. این نوع سرطان از یک ناحیه سرطانی دیگر به استخوان‌ها شیوع می‌یابد (۳).

شیوه‌های مرسوم درمان سرطان، بر ریشه‌کن کردن سلول‌های توموری، از طریق شیمی‌درمانی و رادیوتراپی و فعال‌سازی سیستم ایمنی برای از بین بردن سلول‌های توموری تأکید دارد. بااینکه این شیوه‌های درمانی در برخی سرطان‌ها پاسخ خوبی داشته است، لازم است درمان‌های اختصاصی‌تری برای بیمارانی که به درمان‌های معمول پاسخ نمی‌دهند، ابداع شود (۴). آنتراسیکلین‌ها از مهم‌ترین داروهای ضد سرطان هستند. یکی از معروف‌ترین داروهای این گروه، دوکسوروبیسین است، ولی کارآیی بالینی آن با سمیت قلبی، سرکوب فعالیت مغز استخوان (در تولید سلول‌های خونی) و مقاومت دارویی سلولی محدود می‌شود (۵). روش‌های مختلفی برای کاهش عوارض جانبی و افزایش بازده درمان بکار گرفته شده است. فن‌آوری نانو انقلابی در تشخیص و درمان سرطان به وجود آورده است (۶). ثابت شده است که سیستم‌های حمل دارو با نانوذرات، راندمان درمانی را در برابر سخت‌ترین چالش‌های سرطان شامل مقاومت دارویی و متاستاز تومور افزایش می‌دهد (۷). بنابراین روش‌های درمان سرطان بر پایه نانوتکنولوژی، درمان‌های هدفمند موضعی را فراهم می‌آورد که سبب افزایش تأثیرگذاری، کاهش عوارض جانبی و بهبود کیفیت زندگی بیمار می‌شود (۸).

حامل‌های درمانی در مقیاس نانو برای استفاده بالینی مورداستفاده قرار می‌گیرند که لیپوزوم یکی از این حامل‌ها است. لیپوزوم‌ها سبب می‌شود که امکان بارگیری داروهای محلول در چربی (لیپوفیل) در دولایه فسفولیپیدی و محلول در آب (هیدروفیل) در فضاهای مایع میانی فراهم گردد (۹). سه نمونه از نانو ذرات تأیید شده بر پایه لیپوزوها هم‌اکنون در درمان سرطان استفاده می‌شوند؛ که دو نمونه از آن‌ها در بازار ایالات‌متحده موجود است. یکی از این محصولات شامل لیپوزوم‌های پگیله شده و انباشته شده با داروی دوکسوروبیسین است که در ایالات‌متحده با نام تجاری دوکسیل و در خارج ایالات‌متحده با نام کائلیکس شناخته می‌شود. لیپوزوم‌های پگیله نشده و انباشته شده با دوکسوروبیسین نیز در اروپا تأیید شده و با نام تجاری میوست تولید شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰). محصور کردن داروی دوکسوروبیسین در لیپوزوم، می‌تواند با کاهش دوز مصرفی دارو از اثرات سمی آن کاسته و در ضمن کارآیی درمانی آن را افزایش دهد (۱۱).

در این تحقیق، ما دوکسوروبیسین که یکی از رایج‌ترین داروهای شیمی‌درمانی است با هدف اثرگذاری بر روی رده سلولی سرطان استخوان در لیپوزوم‌های یونی لایه‌ای انکپسوله کردیم. این مقاله روند انکپسوله کردن دوکسوروبیسین در لیپوزوم‌ها و خصوصیات لیپوزوم‌های ساخته شده را بیان می‌کند. هدف از این مطالعه ساخت و طراحی نانوذرات لیپوزومال دوکسوروبیسین به‌منظور اثرگذاری بر روی رده سلولی سرطان استخوان برای

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

اولین بار است. همچنین نانوذره تهیه شده در پژوهش حاضر هدفمند غیرفعال است که برای بهبود رهایش دارو در بخش‌های سرطانی گزارش شده است. دوز داروی مصرفی دارو را به منظور کاهش هزینه‌های تولید مقیاس بزرگ دارو و کاهش عوارض جانبی کاهش یافته است و روش بارگذاری دارو در این تحقیق روش نوینی است که به منظور بهبود خصوصیات سطحی نانو ذرات و افزایش بارگذاری دارو بکار گرفته شده است.

روش بررسی

مواد مورد نیاز در این تحقیق شامل: دوکسوربیسین (Ebewe Pharma, Austria)، دی پالمیتول فسفاتیدیل کولین گلیسرول (1,2- Dipalmitoyl-Sn- glycerol-3-phospho- rac- glycerol,sodium salt (DPPG-Na))، کلسترول(Cholesterol)، از شرکت سیگما (Sigma, USA)، حلال‌های کلروفرم، ۲-پروپانول از شرکت مرک (Merck, Germany)، کیسه دیالیز (با Cut off وزن مولکولی ۱۲۰۰۰ تا ۱۴۰۰۰ دالتون) از شرکت سیگما، فیلتر ۰/۲۲ و ۰/۴۵ میکرومتر از شرکت گیبکو (Gibco, USA) تهیه گردیده است. آب استریل مخصوص تزریق نیز از شرکت ایران فارما (ایران فارما، ایران) تهیه شد.

تهیه نانو لیپوزوم و بارگذاری دارو به روش شیب pH:

مراحل کار در پژوهش‌های قبلی شرح داده شده است (۱۲). به طور خلاصه، فاز لیپیدی DPPG: CHOL با نسبت ۷۰:۳۰ است که در کلروفرم اضافه و حل می‌گردید. سپس کلروفرم موجود فاز آلی محلول حاصل با استفاده از دستگاه تبخیرکننده دوار در دمای حدود ۵۵ درجه سانتی‌گراد و با دور تقریبی ۱۵۰ دور بر دقیقه حذف گردید و فیلم نازک لیپیدی تشکیل شد. جهت اطمینان از حذف کامل حلال، فیلم نازک لیپیدی چندین دقیقه با گاز نیتروژن هوادهی گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه یخچال قرار گرفت. سپس هیدراته کردن با ۳/۳ سی‌سی سولفات آمونیوم (در محدوده ۰/۲±۴= pH) در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به صورت سونیکیت حمامی و هم‌زمان با چرخش روتاری به مدت یک‌ساعت صورت گرفت. کاهش بیشتر سایز به وسیله سونیکیت پرابی (E–Chrom Tech, Taiwan) به مدت ۴۵ دقیقه (۷ ثانیه روشن و ۷ ثانیه خاموش) در حمام یخ صورت گرفت. سپس به‌منظور حذف ناخالصی‌ها و استریلیزاسیون فیلتراسیون ناخالصی‌ها صورت گرفت.

به‌منظور تعویض بافر و افزایش درصد درون‌گیری داروهای آب‌دوست شیب pH بین داخل و خارج لیپوزوم‌ها ایجاد شد. لیپوزوم‌ها داخل کیسه دیالیزی پرورده شده ریخته شد و داخل بافر PBS به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق استیرر شدند. تعویض با بافر جدید هر یک ساعت صورت گرفت. به منظور انباشتن دارو در لیپوزوم های تهیه شده پس از ایجاد گرادیان pH داروی دوکسوربیسین (با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و وزیکول‌های لیپوزومی تشکیل شده به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در روتاری در تماس با یکدیگر قرار گرفتند. در پایان داروی انباشته نشده از طریق روش کیسه دیالیز به مدت ۱ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جداسازی شد.

بررسی میزان انباشتگی دوکسوروبیسین داخل لیپوزوم:

به‌منظور بررسی میزان دوکسوروبیسین انباشته شده، لیپووم‌های تهیه شده با نسبت ۱ به ۹ با محلول تریتون (X-100 1% W/V در آب) مخلوط شده و جذب فرابنفش آن‌ها در طول موج ۴۸۰ نانومتر تعیین و نهایتاً غلظت داروی دوکسوروبیسین با توجه به معادله نمودار استاندارد به دست آمد.

تعیین میزان رهاسازی دوکسوروبیسین از نانو لیپوزوم:

رهایش داکسوروبیسین از لیپوزوم‌ها به وسیله دیالیز در برابر PBS به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد pH های ۷/۴ و ۵/۴ مورد سنجش قرار گرفت. به منظور محاسبه داروی رها شده، محیط دیالیز در زمان‌های متفاوت جمع‌آوری و فوراً با همان حجم از PBS تازه جایگزین شد. نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر فرابنفش در طول موج ۴۸۰ نانومتر آنالیز شدند. بر اساس کل غلظت داروی فرمولاسیون لیپوزومی، درصد رهایش در هر فاصله زمانی محاسبه شد.

تعیین سایز و محدوده توزیع اندازه نانو لیپوزوم‌ها:

محدوده توزیع اندازه ذرات و همچنین پیک اندازه ذرات با استفاده DLS و با دستگاه نانو سایزر Instruments Brookhaven Corp(USA) تعیین شد. اندازه‌گیری نانو لیپوزوم‌ها در یک زاویه ۹۰ درجه و تابش نور لیزر با طول موج ۶۵۷ nm در دمای ۲۵

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. همچنین اندازه‌گیری نمونه‌ها در ۴ مرتبه و هر مرتبه با مدت‌زمان ۳۰ ثانیه انجام گردید. جهت تعیین اندازه از ۰/۶ سی‌سی نمونه با غلظت ۰/۵ mgr/ml تا ۰/۱ استفاده گردید.

تعیین پتانسیل زتا نانو لیپوزوم‌ها:

میزان بار سطحی و پتانسیل زتا نانو لیپوزوم‌ها با استفاده از دستگاه زتا سایزر شرکت Brookhaven Instruments Corp (USA) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید. برای تعیین بار سطحی از ۱/۵ سی سی نمونه با غلظت ۰/۱ mgr/ml استفاده گردید.

تصویربرداری از نانو لیپوزوم‌ها:

از نانو لیپوزوم‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM, KYKY-EM3200-30KV, China) به منظور بررسی شکل و ساختار نانو لیپوزوم‌های تولیدی حامل دارو تصویر گرفته شد. همچنین جهت بررسی چندلایه بودن و ساختار غشاء نانو لیپوزوم، تصاویری با استفاده از میکروسکوپ الکترونی انتقالی (cryo-TEM, FEI Tecnai 20, type Sphera, Oregon, USA) (با توان ۱۵۰ کیلوولت) تهیه گردید.

آنالیز نانولیپوزوم سنتز شده توسط دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز:

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

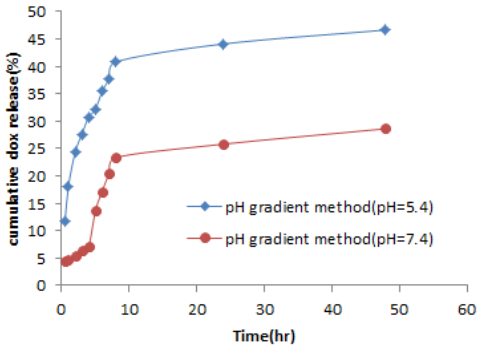
نتایج

بررسی میزان انباشتگی دوکسوروبیسین داخل لیپوزوم:

درصد بارگذاری ترکیب دارویی دوکسووبیسین در نانولیپوزوم به میزان ۴/۳۵ ± ۸۹ تعیین گردید. بر اساس این نتیجه، ما در درون‌گیری دو دارو موفق بوده‌ایم.

تعیین میزان رهاسازی دوکسوروبیسین از نانو لیپوزوم:

نتایج حاصل از سه بار تکرار بررسی میزان آزادسازی دوکسوروبیسین از نانولیپوزوم محاسبه شد که در نمودار ۱ نشان داده شده است. مقدار داروی دوکسوروبیسین آزاد شده از فرمولاسیون دوکسوروبیسین نانولیپوزومه در بافر PBS طی بازه‌های زمانی ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۸، ۲۴، ۴۸ ساعت با استفاده از منحنی استاندارد دوکسوروبیسین در PBS محاسبه شد. الگوی رهایش دارو مطابق تصویر ۱ است. این نمودار نشان می‌دهد که حداکثر مقدار داروی آزادشده از لیپوزوم‌ها در مدت ۴۸ ساعت حدود ۲۶ درصد در بافر خنثی و ۴۶ درصد در بافر اسیدی است.



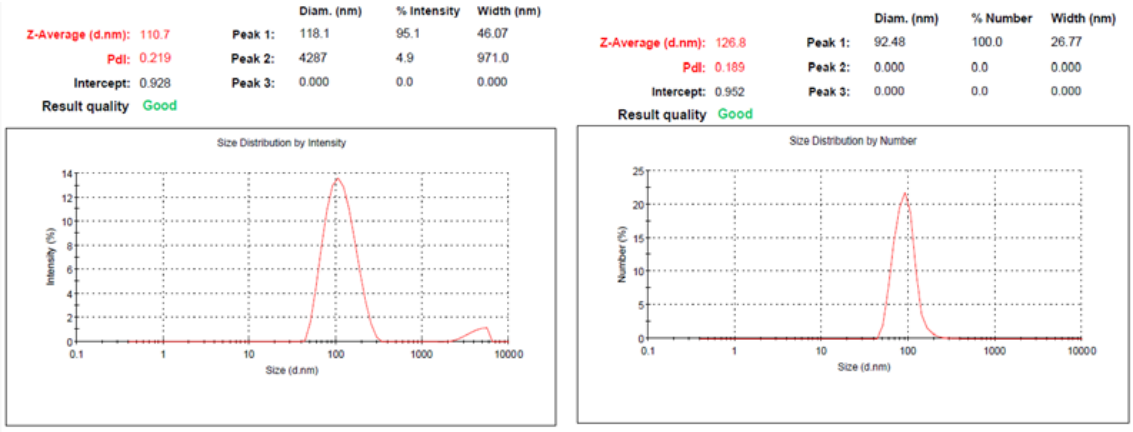
نمودار ۱: نمودار رهایش دوکسوروبیسین در بافر خنثی و اسیدی

تعیین سایز و محدوده توزیع اندازه نانو لیپوزوم‌ها:

اندازه نانو لیپوزوم‌های تولیدی حاوی ترکیب دارویی که به روش سونیکه کردن کاهش اندازه داده شده‌اند به طور میانگین با استفاده از دستگاه نانو سایزر با مد حجمی و با مد تعداد اندازه‌گیری گردیدند. اندازه و توزیع اندازه لیپوزوم‌های ساخته شده قبل و بعد از بارگذاری دارو در نمودار ۲ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود با اضافه کردن دارو مقدار اندازه نانوذرات ساخته شده ۱۵ نانومتر افزایش می‌یابد. توزیع

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

اندازه نانوذرات ساخته شده یکنواخت و میزان شاخص پراکندگی آن کمتر از ۰/۲ گزارش شد.



الف) بعد از اضافه کردن دارو ب) قبل از اضافه کردن دارو

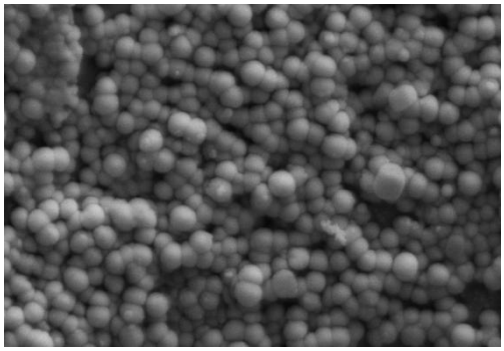
نمودار ۲: اندازه و توزیع اندازه لیپوزوم‌های ساخته شده قبل و بعد از اضافه کردن دارو

تعیین پتانسیل زتا نانو لیپوزوم‌ها:

پتانسیل زتا سطح نانو لیپوزوم های تولیدی حاوی دارو به طور میانگین با استفاده از دستگاه زتا سایزر اندازه‌گیری گردید مقدار پتانسیل زتای نانوذرات بین ۱- تا ۶/۷- متغیر بود. بر اساس این نتیجه نانوذرات تهیه شده بار منفی نزدیک به خنثی دارند.

تصویربرداری از نانو لیپوزوم‌ها:

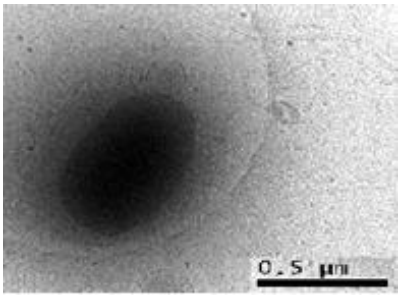
در تصاویر گرفته شده (شکل ۱) با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (با توان ۲۵ کیلوولت) نانو لیپوزوم‌های تولیدی حامل دارو دارای اشکال کروی و ساختاری یکنواخت بودند. در تصویر گرفته شده با میکروسکوپ SEM اندازه میانگین قطر نانو لیپوزوم در حدود ۷/۸ ±۱۱۰ به دست آمد که با نتایج حاصل از SEM تطابق دارد.



شکل ۱: تصویر SEM نانو لیپوزوم حاوی دارو

شکل میکروسکوپ الکترونی انتقالی تهیه شده از نانوذرات در شکل ۲ آمده است. این شکل نشان دهنده شکل بیضوی لیپوزوم‌های حاصل است. دولایه بودن غشاء و ساختار کروی نانو لیپوزوم‌های حامل دارو در تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی انتقالی (TEM) (با توان ۱۵۰ کیلوولت) مشاهده گردید.

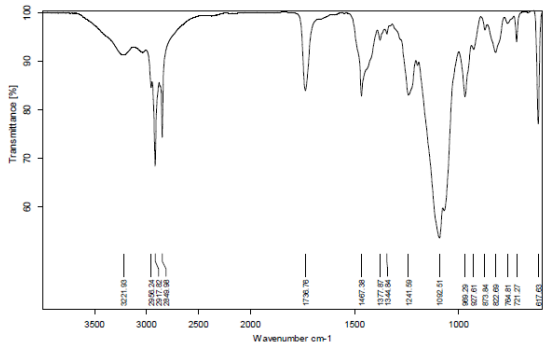
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]



شکل ۲: تصویر TEM نانو لیپوزوم حاوی دارو

بررسی طیف‌سنجی مادون قرمز لیپوزوم‌های دوکسوروبیسین:

در نمودار ۳ نمودار طیف سنجی FTIR نمونه لیپوزومی ساخته شده ارائه گردیده است. در این طیف گروه‌های عاملی در نانوذره تهیه شده را نمایش می‌دهد.



نمودار ۳: نمودار FTIR نمونه لیپوزومی ساخته شده

بحث

سرطان همواره یکی از اساسی‌ترین مشکلات جوامع بشری بوده است. شایع‌ترین روش درمانی، شیمی‌درمانی است که به تنهایی و یا با شیوه‌ای درمانی دیگر استفاده می‌شود. دوکسوروبیسین به عنوان دارو شیمی‌درمانی در انواع سرطان بکار رفته است. دوکسوروبیسین دارویی از دسته آنتراسیکلین‌ها بوده و آنتی‌بیوتیکی است که توسط استرپتومایسس پیوستیوس واریته کاسیوس تولید می‌شود. عوارض جانبی متعددی برای این دارو ذکر شده است که مهم‌ترین عارضه آن می‌توان به سمیت قلبی اشاره کرد.

نانو فناوری یک حوزه میان رشته‌ای بوده و کاربردهای وسیعی در بیولوژی سرطان مانند شناسایی تومور، کشف نشانگرهای زیستی سرطان و گسترش درمان‌های جدید دارد. این رشته به سرعت در حال تکامل و گسترش می‌باشد، استفاده از فناوری نانو این امید را فراهم می‌کند که در جوامع در حال توسعه، راهکارهای جدیدی برای درمان سرطان پیدا کنند. روش‌های گوناگونی برای تولید آزمایشگاهی نانو داروها انجام‌گرفته است، سامانه‌های دارورسانی بر پایه نانوذرات شامل طراحی‌های مختلفی در اندازه، شکل و ماده مورداستفاده هستند. هر نانوذره بر اساس میزان گنجایش آن در بارگذاری دارو، میزان پایداری ذره و دارو، سرعت رهایش دارو و قابلیت رسانش هدفمند شناخته می‌شود. از انواع نانو سامانه‌ها می‌توان به نانو کره‌ها، نانو کپسول‌ها، امولسیون‌ها، میسل‌ها و لیپوزوم‌ها اشاره کرد. اثبات شده که نانو حامل‌ها توانایی رساندن داروها را به سلول هدف را دارند. یکی از نانو حامل‌های لیپیدی، لیپوزوم

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

است. لیپوزوم دارو را در مقابل تخریب حفاظت می‌کنند و در مقابل، بیمار را در برابر عوارض جانبی داروی بارگذاری شده محافظت می‌کند (۱۳). از میان نانو ذرات ذکر شده، لیپوزوم پاسخ خوبی به تحقیقات در این زمینه را داده است. لیپوزوم ها ترکیب زیست سازگارند به طوری که انکپسوله کردن دوکسوروبیسین در لیپوزوم به شدت اثرات جانبی و سمیت قلبی آن را کاهش می‌دهد. همچنین لیپوزوم‌ها موادی زیست تخریب پذیر با نفوذپذیری بالا می‌باشند که به دلیل داشتن بخش‌های آب‌دوست و آب‌گریز، سبب می‌گردند که لیپوزوم‌ها به‌عنوان حامل‌های درمانی بسیار خوبی شوند.

در این پژوهش بارگذاری داروی دوکسوروبیسین در داخل لیپوزوم به منظور افزایش پایداری دارو در بدن جهت رسانش به سلول‌های سرطانی استخوان، انجام‌گرفته است. 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. امروزه نانو لیپوزوم‌ها با داشتن تأییدیه اداره دارو و غذای آمریکا (FDA) بیشترین نانو حامل‌های مورداستفاده در کاربردهای بالینی برای انتقال داروها در بدن می‌باشند (۱۵،۱۴).

استفاده از نانولیپوزوم به عنوان حامل برای انتقال دوکسوروبیسین به سلول‌های سرطانی استخوان می‌تواند نقش مهمی در پایداری این دارو در بدن ایفا نماید. در نانو لیپوزوم تولیدشده در این تحقیق، نمودار آزادسازی داروی دوکسوروبیسین از نوع آهسته رهش است و فسفولیپیدها نیز که اجزای اصلی این نانولیپوزوم را تشکیل می‌دهند، موادی زیست تخریب‌پذیر و عموماً غیر سمی می‌باشند که در تمامی غشاءهای زیستی موجودات زنده اغلب وجود دارند.

در سال ۱۹۹۶، دیمیتری کرپوتین و همکاران از مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه کالیفرنیا موفق به ساخت ایمنولیپوزوم های حاوی داروهای ضد سرطان شدند (۱۶).

در سال ۲۰۰۱، کرالد و همکاران کاهش میزان سمیت داروی دوکسوروبیسین محصورشده در لیپوزوم را نسبت به داروی دوکسوروبیسین آزاد بر روی قلب موردبررسی قراردادند که نتایج به دست آمده نشان داد که سمیت قلبی داروی دوکسوروبیسین محصور در لیپوزوم به مقدار قابل‌توجهی کمتر است (۶).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۴ رام و همکاران، سینتیک تأثیر داروی دوکسوروبیسین آزاد و محصور در لیپوزوم را روی سلول‌های ملانوما مورد بررسی قرار داند (۱۷).

در سال ۲۰۱۰ مای تان همکاران کارآیی داروی شیمی‌درمانی دوکسوروبیسین محصور شده در میکرو ذرات کیتوزان- دکستران سولفات برای درمان سرطان استئو سارکوما مورد بررسی نمودند (۱۸).

در این تحقیق نتایج حاصل از اندازه‌گیری قطر لیپوزوم ها با استفاده از دستگاه زتا سایز، اندازه ذرات در ابعاد نانو را تایید نمود. بررسی میزان بارگذاری دارو نشان می‌دهد که مقدار قابل‌توجهی از دارو در داخل وزیکول‌ها قرار گرفته است و این موضوع می‌تواند تا حد زیادی مرتبط به نسبت‌های کنترل‌شده فسفولیپد، کلسترول، دارو و همچنین روش مورداستفاده در سنتز است. بررسی الگوی رهایش دارو نانولیپوزومه شده نشان دهنده این است که رهاسازی دارو نسبتاً آهسته صورت می‌گیرد و همان‌طور که پیش‌بینی می‌شد استفاده از لیپوزوم به عنوان عامل دارورسانی نقش مؤثری در کندکردن رهایش دارو دارد و این به دلیل این است که دارو زمان بیشتری نیاز دارد تا بتواند از لایه‌های فسفولیپدی عبور کند. با توجه به ویژگی‌های ارزشمند نانو سامانه لیپوزومی حامل داروی دوکسوروبیسین تولیدشده در این تحقیق، همچون زیست سازگاری با بدن (به دلیل نوع فسفولیپید)، اندازه مناسب زیر ۱۵۰ نانومتر و داشتن منحنی آهسته رهش دارو، این سامانه می‌تواند راهکاری مؤثر در افزایش پایداری این دارو در بدن و درمان سرطان استخوان در آینده‌ای نزدیک باشد. همچنین نانوذره تهیه شده حساس به pH است و به عبارت دیگر از نوعی هدفمندی غیرفعال برخوردار است و بیشترین داروی رها شده از آن در pH اسیدی است. بافر اسیدی مشابهت‌سازی شده با pH سلول‌های سرطانی و pH خنثی مشابهت‌سازی شده با شرایط فیزیولوژیک

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

سلول‌های سالم است و نشان می‌دهد نانوذره بیش‌ترین رهایش خود را در این منطقه داشته است. این مسئله تا حد زیادی عوارض جانبی دارو را کم می‌کند. بنابراین نانوذره آهسته رهش حساس به pH تا حد زیادی می‌تواند سمیت داروی شیمی-درمانی در مقابل سلول‌های سرطانی را افزایش دهد و باعث کاهش عوارض جانبی دارو در مجاورت سلول‌های سالم گردد. امید است که در تحقیقات آتی با به‌کارگیری هدفمندی‌های اختصاصی‌تر نشانه‌گیری دقیقی برای سلول‌های سرطانی و ایجاد تمایز با سلول‌های سالم صورت گیرد.

سپاسگزاری

از سرکار خانم فاطمه حکیمیان، پژوهشگر مرکز بیوفیزیک و بیوشیمی دانشگاه تهران جهت همکاری‌های علمی تقدیر و تشکر می‌گردد.

References:

1- Guo J, Bourre L, Soden DM, O'Sullivan GC, O'Driscoll C. ***Can non-viral technologies knockdown the barriers to siRNA delivery and achieve the next generation of cancer therapeutics?*** Biotechnol. Adv 2011; 29(4): 402-17.

2- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. ***Willard, Thompson and Thompson genetics in medicine,*** Elsevier Health Sciences, 2004.

3- Martin JW, Squire JA, Zielenska M. ***The genetics of osteosarcoma***, Sarcoma 2012.

4- Wu SY, McMillan NA. ***Lipidic systems for in vivo siRNA delivery.*** AAPS J 2009; 11(4): 639-52.

5- Barenholz Y, Gabizon A. ***Gabizon, Liposome/doxorubicin composition and method***, (1990).

6- Riaz M. ***Liposomes preparation methods.*** Pak J Pharm Sci 1996; 9(1): 65-77.

7- Sun R, Liu Y, Li SY, Shen S, Du XJ, Xu CF, et al. ***Co-delivery of all-trans-retinoic acid and doxorubicin for cancer therapy with synergistic inhibition of cancer stem cells.*** Biomaterials 2015; 37: 405-14.

8- Kennedy LC, Bickford LR, Lewinski NA, Coughlin AJ, Hu Y, Day ES, et al. ***A New Era for Cancer Treatment: Gold-Nanoparticle-Mediated Thermal Therapies***. Small 2011; 7(2): 169-83.

9- Ho JA, Lin YC. ***Device for preparation of liposomes and method thereof.*** U.S. Patent 8,932,498 (2015).

10- Koo OM, Rubinstein I, Onyuksel H. ***Onyuksel, Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review, Nanomedicine Nanotechnology.*** Biol. Med 2005; 1(3): 193-212.

11- Markley KS. ***Soybeans and soybean products.*** (1951).

12- Haghiralsadat F, Amoabediny G, Sheikhha MH, Forouzanfar T, Helder MN, Zandieh-doulabi B. ***A novel approach on drug delivery: Investigation of new nano-formulation of liposomal doxorubicin and biological evaluation of entrapped doxorubicin on various osteosarcomas cell lines.*** Cell J 2016.

13- Costantino L, Boraschi D. ***Is there a clinical future for polymeric nanoparticles as brain-targeting drug delivery agents?*** Drug Discov Today. 17 (2012) 367–378.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

14- Weissig V. ***Liposomes: Methods and Protocols, Volume 1: Pharmaceutical Nanocarriers./Mozafari MR. Ch. 2: Nanoliposomes: Preparation and Analysis.*** Springer 2010; 12: 29-50.

15- Torchilin VP. ***Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers, Nat. Rev***. Drug Discov 2005; 4(2): 145-60.

16- Batist G, Ramakrishnan G, Rao CS, Chandrasekharan A, Gutheil J, Guthrie T, et al. ***Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer.*** J Clin Oncol 2001; 19(5): 1444-454.

17- Eliaz RE, Nir S, Marty C, Szoka FC. ***Determination and modeling of kinetics of cancer cell killing by doxorubicin and doxorubicin encapsulated in targeted liposomes.*** Cancer Res 2004; 64(2): 711-18.

18- Tan ML, Friedhuber AM, Dunstan DE, Choong PF, Dass CR. ***Dass, The performance of doxorubicin encapsulated in chitosan–dextran sulphate microparticles in an osteosarcoma model.*** Biomaterials 2010; 31(3): 541-51.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]

New Approach for the Synthesis, Entrapment of Hydrophilic Drugs and Evaluation of Physico-Chemical Characteristics of PH-sensitive Nano-Liposome: Improving Therapeutic Efficacy of Doxorubicin in Order to Treatment Bone Tumor and Reducing the Side Effects of Doxorubicin

Bibi Fatemeh Haghiralsadat (PhD student) [1], Ghasem Amoabediny (PhD) [2]
Mohammad hasan sheikhha (PhD)[3], Mohammad Javad Mohammad Nezhad (PhD) [4]
Samira Naderinezhad (MSc) [5], Zahra Malaei-Balasi (MSc) [6], Behrouz Zandieh Doulabi (PhD)[7]

[1,4] *Department of life science engineering, Faculty of New sciences & technologies, University of Tehran, Tehran, Iran.*
[2] *Department of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, School of Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran.*
[3] *Biotechnology Research Center, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran.*
[5] *Department of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering, College of Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran.*
[6] *Department of chemical engineering- biotechnology, Faculty of Advanced science & Technology, University of Esfahan, Esfahan, Iran.*
[7] *VU University Amsterdam Oral Cell Biology and Functional Anatomy, Amsterdam, Netherlands.*

Received: 20 Feb 2016 ***Accepted:*** 22 Sep 2016

Abstract

Introduction: Cancer is one of the most harmful diseases throughout the world. Doxorubicin is an anti-cancer agent, used in the treatment of various types of the cancer such as bone cancer. There are several adverse effects related to clinical usage of Doxorubicin for long time. The present study was aimed on reducing side effects and enhancing the therapeutic effect by liposomal carrier.

Methods: Liposomes containing DPPG and cholesterol with the molar ratio of 70:30 with the Doxorubicin were synthesized by pH- gradient method. The average diameter of nanoparticles and surface charge was determined by Zeta-Sizer instrument. The amount of drug loaded and drug-released was determined using dialysis. The surface morphology and internal lamella was evaluated by TEM and SEM.

Results: The average size of liposomal Doxorubicin obtained using Zeta-Sizer was 126 nm. The encapsulation efficacy of liposomal Doxorubicin was 89%. The total amount of drug release during 48 hours in acidic medium studied by dialysis technique was 46%.

Conclusion: In this study, investigation of loading Doxorubicin into nano-liposome with the slow- released kinetic was carried out to improve the solubility and bioavailability of Doxorubicin in order to delivery to osteosarcoma cell line.

Keywords: Cancer, Osteosarcoma, characterization, Doxorubicin, Nano-liposomes, pH- sensitive

This paper should be cited as:
Bibi Fatemeh Haghiralsadat, Ghasem Amoabediny, Mohammad hasan sheikhha, Mohammad Javad Mohammad nezhad, Samira Naderinezhad, Zahra Malaei-Balasi, Behrouz Zandieh Doulabi. ***New approach for the synthesis, entrapment of hydrophilic drugs and evaluation of physico-chemical characteristics of ph-sensitive nano-liposome: improving therapeutic efficacy of doxorubicin in order to treatment bone tumor and reducing the side effects of doxorubicin.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 24(10): 780-89.

****Corresponding author: Tel: 09132507158, email: amoabediny@ut.ac.ir***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-23]