

سنتز و بهینه‌سازی حامل‌های نیوزومی حاوی داروی دوکسوروبیسین به منظور دستیابی به فرمولاسیون نهایی با پتانسیل بالا در دما و اسیدیته سلول‌های سرطانی

هاشم شاهی مال میر^۱، سید مهدی کلانتر^۲، الهام ساسانی^۳، مرتضی اسگری^۴،
محمد مجدی زاده^۵، بی بی فاطمه حقیرالسادات^{۶*}

مقاله پژوهشی

مقدمه: دوکسوروبیسین، از متداول‌ترین داروهای مورد استفاده در شیمی‌درمانی سرطان با عوارض جانبی بسیار همراه بوده و این حقیقت استفاده از آن را با محدودیت‌هایی مواجه می‌سازد. در مطالعه حاضر با تکیه بر دانش نانوحامل‌های دارویی، فرمولاسیون‌های متعددی از فرم نیوزومه شده این دارو سنتز شده و بهینه‌سازی‌های سطحی در خصوص فرمولاسیون منتخب نهایی اعمال گردید.

روش بررسی: پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است. سامانه‌های نیوزومی با فرمولاسیون‌های متعدد و استفاده از توئین-۶۰ و کلسترول به روش هیدراتاسیون فیلم نازک سنتز شدند. داروی دوکسوروبیسین به طور غیرفعال درون نیوزوم‌ها بارگذاری شد. سپس بهینه‌سازی‌ها بر اساس انتخاب تجربی دو فرمول از ۶ فرمول ساخته شده، و بررسی اثر افزودن توئین ۲۰، پلیمر DSPE-mPEG (2000) و فسفولیپید کاتیونی DOTAP (به ترتیب) صورت پذیرفت. سپس شاخص‌های فیزیکوشیمیایی نانوسامانه از منظر بازده درون‌گیری، پروفایل رهایش دارو در شرایط مشابه سلول‌های سالم و سرطانی، قطر هیدرودینامیک، Poly Dispersity Index، پتانسیل زتا، مورفولوژی و طیف Infrared Spectroscopy (IR) تعیین گردید. به منظور رسم گراف‌ها و بیان داده‌ها به ترتیب از نرم‌افزارهای Origin و Excel استفاده شد.

نتایج: فرمول نیوزوم بهینه شده نهایی نیوزومی دارای قطر ۹۲/۵۹nm، انکسپولاسیون $0/43 \pm 91/8\%$ ، پتانسیل زتا $-3/5mV$ و شاخص پراکندگی ۰/۱۹۶ می‌باشد. حداکثر رهایش دارو از نانوسامانه تحت شرایط سلول‌های سالم و سرطانی ($37^\circ C$ ، $pH=7/4$ و $^\circ C$ ۴۲، بعد از گذشت ۴۸ ساعت، به ترتیب: $76/5\%$ و $62/3\%$ بوده است. بررسی‌های Field Emission Scanning Electron Microscope و IR نشان از مورفولوژی کروی و عدم وجود برهم‌کنش شیمیایی میان نانوسامانه و دارو بوده است.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نیمه هدفمند بودن این حامل دارویی را اثبات می‌کند. هم‌چنین نشان می‌دهد، نیوزوم بدون ایجاد تغییر در ماهیت شیمیایی دارو و با تخصصی نمودن دارورسانی، اثربخشی و کیفیت‌زندگی بیمار را افزایش و عوارض جانبی را کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: حامل‌های دارویی، نیوزوم، دوکسوروبیسین، ضد سرطان، رهایش دارو

ارجاع: شاهی مال میر هاشم، کلانتر سید مهدی، ساسانی الهام اسگری، مرتضی، مجدی زاده محمد، حقیرالسادات بی بی فاطمه. سنتز و بهینه‌سازی حامل‌های نیوزومی حاوی داروی دوکسوروبیسین به منظور دستیابی به فرمولاسیون نهایی با پتانسیل بالا در دما و اسیدیته سلول‌های سرطانی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۱۰): ۹۴-۸۷.

۱- کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، گروه زیست‌شناسی، موسسه آموزش عالی نوردانش، میمه، اصفهان، ایران.

۲- استاد، مرکز پژوهشی بیوتکنولوژی، پردیس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، ایران

۳- کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور مرکز تفت، یزد، ایران.

۴- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، موسسه آموزش عالی نور دانش، میمه، اصفهان، ایران.

۵- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی- بیوفیزیک، شرکت ریز زیست فناوریان فردانگر، مرکز زیست فناوری، پارک علم و فناوری، یزد، ایران.

۶- دکتری نانویوتکنولوژی، گروه علوم و فنون نوین، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۳۲۵۰۷۱۵۸، پست الکترونیکی: Fhaghirosadat@gmail.com، کد پستی: ۳۳۱۹۱۱۸۶۵۱

مقدمه

سرطان گروهی از بیماری ها را شامل می شود که مشخصه آنها، رشد سلولی تنظیم نشده و تهاجم و انتشار سلول ها از جایگاه اصلی یا مکان اولیه به نقاط دیگر بدن می باشد (۱). این بیماری یکی از علل اصلی مرگ و ناتوانی در سرتاسر جهان، هر ساله بیش از ۱۴ میلیون نفر را تحت تأثیر قرار می دهد (۲). اپیدمی جهانی سرطان همراه با افزایش مداوم نرخ رشد و پیری در حال افزایش است. آمار به دست آمده در سال ۲۰۱۶ بیان می کند که بیش از چهار پنجم (۸۶٪) بیماران مبتلا به سرطان در ایالات متحده امریکا، سن بالای ۵۰ سال دارند (۳). عدم وابستگی به پیام رسانی فاکتورهای رشد طبیعی، گریز از پیام های مهاری رشد، گریز از آپوپتوز، نامحدود بودن همانند سازی، رگ زایی و متاستاز از ویژگی های بارز سلول های سرطانی است. پژوهش ها نشان می دهد که عواملی همانند محیط، رژیم غذایی، سیگار کشیدن، طول مدت باروری و غیره، می توانند خطر ابتلا به سرطان را افزایش دهند. کاهش وزن زیاد بدون دلیل خاص، تب، درد و خستگی مفرط از جمله علائم عمومی سرطان به شمار می رود و در کنار آن سوء هاضمه، سرفه های آزار دهنده، خونریزی و تغییر در اجابت مزاج، از نشانه های اختصاصی ابتلا به سرطان است (۱).

به منظور درمان سرطان ها، معمولاً از سه روش جراحی، رادیودرمانی و شیمی درمانی استفاده می شود که بهره گیری از درمان های آنتی نئوپلاستی به هنگام شکست روش های درمانی دیگر، شانس بقای بیمار را بهبود بخشیده و کیفیت زندگی او را به واسطه کاهش تعداد سلول های سرطانی و علائم آنها، افزایش می دهد (۴). عوامل آلكيله كننده با تخریب DNA سلول های سرطانی، مواد آنتی متابولیت با ایجاد تداخل در عملکرد یا بیان متابولیت های طبیعی مورد نیاز برای همانند سازی و رونویسی DNA، آلكالوئیدهای گیاهی با ایجاد اختلال در فرآیند میتوز، مواد هورمونی و ضدهورمونی و آنتی بیوتیک های ضد توموری از جمله موادی هستند که در روند شیمی درمانی سلول های سرطانی استفاده مورد استفاده قرار می گیرند (۱۰-۵).

داروی دوکسوروبیسین، یک ترکیب چهار حلقه ای متعلق به خانواده آنتی بیوتیک های آنتراسایکلین است که از باکتری *Streptomyces peucetius* به دست می آید و در درمان طیف وسیعی از سرطان ها کاربرد دارد (۱۱،۱۲). دوکسوروبیسین با اتصال به اهداف مولکولی خود از جمله توپوایزومراز I و II، طیفی از اثرات سایتوتوکسیک به جای می گذارد که در نهایت با آسیب و تخریب DNA همراه است (۱۲). اگرچه طراحی داروهای شیمی درمانی، با پیشرفت های بسیاری همراه بوده است، اما عواملی مانند، مقاومت دارویی و غیراختصاصی عمل نمودن داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی از جمله دوکسوروبیسین، این روش درمانی سرطان را با چالشی جدی روبرو نموده است. به عنوان مثال، بر اثر غیراختصاصی عمل نمودن داروهای شیمی درمانی، علاوه بر سلول های سرطانی، سلول های سالم نیز مورد هدف قرار می گیرند که در پی آن، ارگان های مختلف بدن دچار سمیت شده و عوارض جانبی از قبیل تهوع، استفراغ، ضعف، خستگی و غیره بروز می کند. از این رو پژوهش گران حوزه سرطان همواره به دنبال راه کارهایی در جهت کاهش عوارض جانبی داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی هستند (۱۳). بنابراین نانوپزشکی به دنبال استفاده از ابزارها و نانوحامل هایی است که در سطح مولکولی با بدن وارد تعامل می شوند، تا از این طریق با انتقال دارو به بافت مورد نظر، کارایی درمان را افزایش و عوارض جانبی را کاهش دهد (۱۴). در این میان از نانو حامل های لیپیدی از جمله نیوزوم می توان به عنوان راه کارهایی نوین جهت دارورسانی به بافت های سرطانی اشاره نمود (۱۵). نیوزوم ها، وزیکول های سورفکتانتی غیر یونی هستند که از هیدراتاسیون کلسترول با سورفکتانت های غیر یونی در محیط آبی تهیه می شوند. حضور کلسترول در ساختار دولایه منجر به شکل گیری نیوزوم هایی با نفوذپذیری کمتر می شود (۱۶). سورفکتانت های غیر یونی نیز، سایز وزیکول را افزایش داده و به آن شارژ می دهند، این دو مورد باعث افزایش بازده بدام اندازی در نیوزوم ها می شود (۱۷). طراحی آسان، زیست تخریب پذیری، زیست سازگار بودن، غیر ایمونوژن بودن،

۲- رسم معادله خط کالیبراسیون دوکسوروبیسین هیدروکلراید

به منظور رسم نمودار کالیبراسیون دارو و به دست آوردن معادله خط آن، غلظت های متعدد (۵-۳۵ mg/mL (W/V) از دارو به روش سری استاندارد در ایزوپروپیل و PBS (Phosphate Buffered Saline) ساخته شد. سپس جذب نوری آن ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۱ nm و تکرارهای ۳ تایی (محدوده تابعیت رابطه جذب و غلظت از قانون Beer-Lambart) اخذ گردیده و در نهایت، نسبت به رسم نمودار، به دست آوردن معادله خط و ضریب رگرسیون اقدام گردید (۲۰).

۳- ساخت نیوزوم حاوی دوکسوروبیسین هیدروکلراید

نیوزوم های حاوی دوکسوروبیسین به روش آب پوشانی لایه نازک و با نسبت های مولی جدول ۱ تهیه گردید، که خلاصه آن بدین شرح است: ابتدا سورفکتانت و کلسترول در حلال کلروفرم و در دمای °C ۴۵ بر روی روتاری (هایدولف، آلمان) حل شده و تحت شرایط خلاء، فیلم نازک خشک تهیه گردید. سپس عمل هیدراته کردن با افزودن آب مقطر استریل و داوری دوکسوروبیسین طی مدت یک ساعت و در دمای °C ۵۵ انجام گردید. سپس نانوذرات تهیه شده، با استفاده از سونیکیت حمامی برای مدت ۴۰ دقیقه کاهش سایز داده شد (۲۱).

جدول ۱: فرمولاسیون های اولیه نیوزو حاوی داروی دوکسوروبیسین

No.	Formula Code	Lipid/Drug ratio	Tween-60 (%)	Cholestrol (%)
F1	A	۱۰	۱۰۰	۰
F2	B	۱۰	۹۰	۱۰
F3	C	۱۰	۸۰	۲۰
F4	D	۱۰	۷۰	۳۰
F5	E	۱۰	۶۰	۴۰
F6	F	۱۰	۵۰	۵۰

دوکسوروبیسین آزاد و انکپسوله نشده حذف گردد. سپس نیوزوم های ساخته شده را با نسبت های حجمی ۱:۱۰، ۱:۲۰، ۱:۵۰، ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ با ایزوپروپیل مخلوط کرده تا دیواره لیبیدی اطراف دوکسوروبیسین شکسته شود و دارو آزاد گردد.

انعطاف پذیری بالا، آهسته رهش بودن و غیره، بخشی از مزایای نیوزوم ها است که آن را به یکی از مهم ترین سیستم های دارورسان مبدل کرده است (۱۸،۱۹). با این وجود، توده ای و فیوز شدن نیوزوم ها در بافت های پوست و نفوذپذیری ناچیز این حامل های دارویی در پوست، آن ها را به حامل هایی نامناسب برای دارورسانی پوستی (ترانسدرمال) تبدیل کرده است (۱۶). پژوهش حاضر با هدف سنتز فرمولاسیون های متفاوت از نانوذرات نیوزومی حاوی دوکسوروبیسین برای دستیابی به فرمولاسیونی نهایی انجام گرفته است که در طی آن، فرمولاسیون تهیه شده از جهت کارایی درون گیری دارو، اندازه ذرات، رهش ۳۰ ساعته، برهم کنش میان دارو و نانوسامانه و مورفولوژی ذرات، مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

۱- مواد شیمیایی

دوکسوروبیسین هیدروکلراید به صورت ویال های تزریقی با غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر متعلق به شرکت Cell pharm GmbH آلمان، خریداری شد. کلسترول، توئین ۶۰ و ۲۰ و DSPE-PEG2000 متعلق به شرکت Merck آلمان و DOTAP chloride متعلق به شرکت Sigma Aldrich آمریکا بوده که تهیه و خریداری شد.

۴- تعیین درصد بارگذاری دارو در نیوزوم

برای این منظور ابتدا نانو نیوزوم ها را بعد از کاهش سایز وارد کیسه دیالیز نموده و به مدت یک ساعت درون بشری با ۵۰ cc از بافر PBS و در دمای °C ۴ قرار داده شد تا

فرمول جدید بازسازی شده با Tween-20، فرمول نهایی انتخاب می شود. در مرحله سوم به بررسی اثر پلیمر DSPE- DOTAP (۰.۲M) و لیپید mPEG2000 (۰.۳M) بر فرمول نهایی پرداخته شده است. در پایان کار نیز ویژگی های فیزیکوشیمیایی نانونیوزوم نهایی مورد بررسی قرار گرفته است.

۸- آنالیز نانونیوزوم حاوی دوکسورویسیسین، توسط دستگاه طیف سنجی مادون قرمز

حامل های نیوزومی با سانتیفریوژ از سوسپانسیون جدا شده و محلول اضافی تبخیر گردید. نمونه ها با KBr مخلوط شده و در درون پلیت فشرده می شوند. طیف FT-IR به منظور بررسی گروه های عاملی نانو نیوزوم ها در محدوده طول موج cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ برای نمونه های جامد، و طیف AT-IR cm^{-1} ۴۰۰۰-۶۰۰ برای نمونه های مایع، اسکن گردید. بدین منظور طیف تمام مواد اولیه مورد استفاده در ساخت فرمولاسیون های نیوزومی و داروی دوکسورویسیسین هیدروکلراید اخذ شده و با فرمولاسیون نهایی مقایسه می گردد. هدف این مرحله بررسی برهمکنش های شیمیایی میان سامانه نیوزومی و دارو است.

۹- تصویربرداری از نانونیوزوم حاوی دوکسورویسیسین مقدار ۲۵μl از نمونه نیوزومی بر روی یک لام ریخته و محلول در مجاورت هوا خشک شد. نمونه ها چند ثانیه با طلا پوشش داده شده تا رسانا شوند. سپس مورفولوژی سطحی نانوحامل ها (زبری، شکل، صافی و توده ای شدن) با استفاده از دستگاه Field Emission Scanning Electron Microscopes (FE-SEEM) بررسی گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

در مطالعه حاضر بیان داده ها و رسم گراف ها با استفاده از نرم افزار های Excel و Origin صورت پذیرفته است. داده ها به صورت (انحراف معیار ± میانگین) بیان شده است.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این پژوهش در موسسه آموزش عالی نوردانش طرح و تصویب گردیده است. (کد اخلاق IR.SSU.MEDICINE.REC.1395.6)

در مرحله بعد میزان جذب دوکسورویسیسین انکپسوله شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ماکزیمم دوکسورویسیسین (۴۸۱ nm) محاسبه شد. در پایان با استفاده از نمودار استاندارد دوکسورویسیسین در ایزوپروپیل، و رابطه (۱)، درصد لود دوکسورویسیسین در نیوزوم محاسبه گردید (۲۱).

$$\text{Entrapment Efficiency (EE \%)} = \frac{\text{Encapsulated Drug Concentration}}{\text{Primary Drug Concentration}} \times 100$$

رابطه (۱)

۵- تعیین اندازه نانو ذرات و ضریب پراکندگی و پتانسیل زتا پتانسیل زتای (Zeta-Potential) فرمولاسیون های نیوزومی، شاخص پراکندگی (Polydispersity Index) و سایز آن ها، با استفاده از دستگاه زتا سایزر شرکت Malvern Instruments مدل Nano-ZetaSizer ES در دمای اتاق و زاویه 90° اندازه گیری گردید.

۶- بررسی روند رهایش دارو

به منظور شبیه سازی رهایش دارو از حامل در محیط *in vivo*، از PBS و دمای $37^\circ C$ استفاده شد، تا به توان شرایط سینک را برقرار ساخت. در ادامه مقدار 0.5 mL از محلول نیوزومی حاوی داروی دوکسورویسیسین درون کیسه دیالیز قرار گرفت. سپس با قرار دادن کیسه دیالیز درون یک محیط ایزوله (فالكون استریل و بسته) با تنظیمات یاد شده استیر شد. نمونه برداری از محیط اطراف کیسه دیالیز در زمان های مشخص صورت پذیرفت. در انتها با بهره گیری از معادله کالیبراسیون دوکسورویسیسین در بافر PBS نسبت به محاسبه غلظت های آزاد شده دارو در دما های $37^\circ C$ و $42^\circ C$ و به ترتیب با pH های $7/4$ و $5/4$ در زمان های مختلف و رسم نمودار آن اقدام گردید (۲۰، ۲۱).

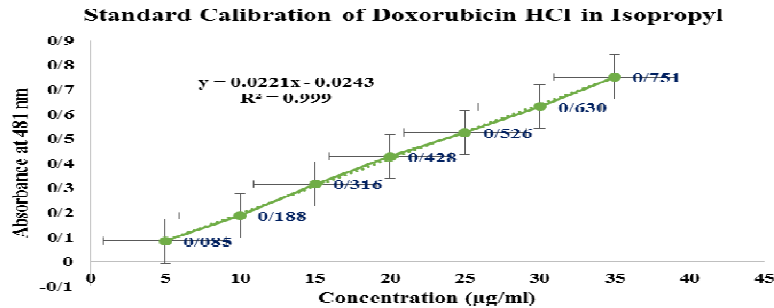
۷- انتخاب فرمولاسیون نهایی

برای انتخاب فرمولاسیون نهایی، در مرحله نخست بر مبنای درصد انکپسولاسیون دارو در نیوزوم، از بین فرمول های اولیه A, B, C, D, E, F، دو فرمول انتخاب می شود. در مرحله دوم، با افزودن $10 \mu\text{l}$ از ماده Tween-20 به فرمول های منتخب مرحله نخست، فرمول های جدیدی را بازسازی کرده و با مقایسه نتایج به دست آمده از دو فرمول منتخب مرحله نخست و دو

نتایج

(نمودار ۱) و رابطه ۱، درصد انکپسولاسیون دوکسوروبیسین هیدروکلراید برای فرمول‌های اولیه نیوزومی محاسبه شده و نتایج آن در جدول ۲ بیان شده است.

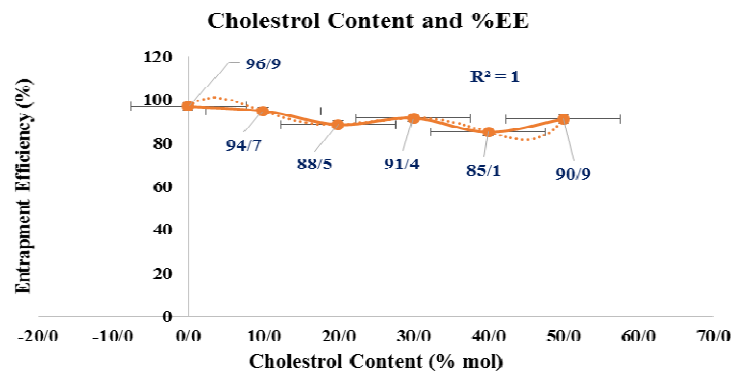
بررسی بازده درون‌گیری، دارو در فرمول‌های اولیه نیوزومی و انتخاب فرمولاسیون‌های برگزیده با استناد به معادله خط کالیبراسیون دوکسوروبیسین هیدروکلراید در ایزوپروپیل



نمودار ۱: کالیبراسیون دوکسوروبیسین در ایزوپروپیل

جدول ۱: درصد انکپسولاسیون برای فرمولاسیون‌های اولیه نیوزومی حاوی داروی دوکسوروبیسین

NO.	Formula	% Encapsulation Efficiency (% EE Mean± SD)
1	A	۹۶/۹±۰/۷۲
2	B	۹۴/۷±۰/۷۹۳
3	C	۸۸/۵±۱/۴۱
4	D	۹۱/۴±۰/۵۳
5	E	۸۵/۱±۰/۷۴
6	F	۹۰/۹±۰/۸۳



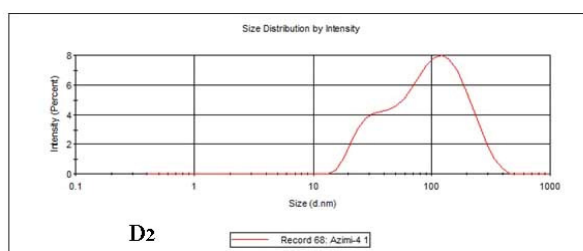
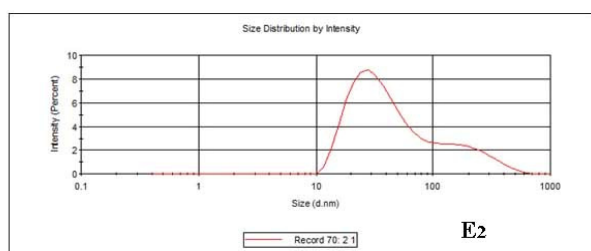
نمودار ۲: منحنی تأثیر کولسترول بر بازده درون‌گیری دوکسوروبیسین در حامل‌های نیوزومی

این اساس از میان فرمول‌های اولیه، فرمول‌های D و E با توجه به درصد انکپسولاسیون و میزان غلظت کولسترول در ساختار سامانه نیوزومی، برای انجام مراحل بعدی آزمایش و انتخاب فرمول نهایی، برگزیده شدند.

هم چنین نحوه اثر غلظت کولسترول بر بازده درون‌گیری دارو مطابق نمودار ۲ نشان می‌دهد که میزان غلظت کولسترول بر بازده درون‌گیری موثر بوده است و با کاهش غلظت کولسترول، میزان انکپسولاسیون افزایش می‌یابد. بر

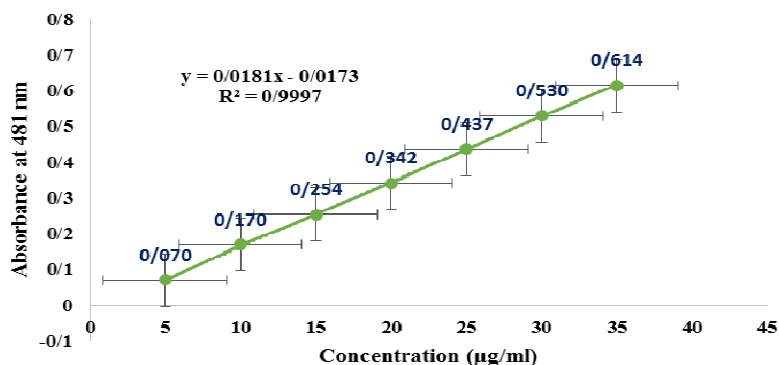
مقایسه درصد انکپسولاسیون در فرمول های جدید با درصد انکپسولاسیون در فرمول های منتخب اولیه نشان می دهد که، با افزودن Tween-20، به فرمول های منتخب، بازده درون گیری افزایش یافته است. سایز، شاخص پراکندگی (PDI) و پتانسیل زتا برای فرمولاسیون های D_2 به ترتیب ۷۱/۴ nm، ۰/۲۹۵ و ۰/۳۴۱ mV و برای فرمولاسیون E_2 به ترتیب ۳۵/۸۸nm، ۰/۳۴۱ و ۳/۱۲mV می باشد.

بررسی اثر افزودن Tween-20، بر فرمولاسیون های منتخب (فرمول های E و D) با افزودن Tween-20، به فرمولاسیون های منتخب (فرمول های E و D)، فرمول های جدیدی به نام های E_2 و D_2 ایجاد می شود که نتایج افزودن این ماده به شرح ذیل می باشد: درصد انکپسولاسیون داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید برای فرمول E_2 ، $88/7 \pm 0/86$ و برای فرمول D_2 ، $95/2 \pm 0/73$ است.

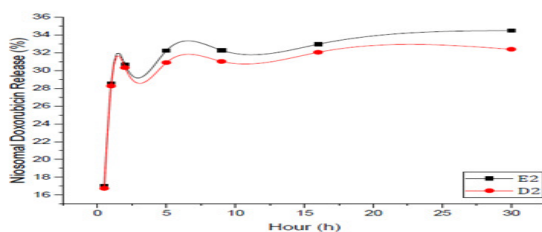


تصویر ۱: توزیع سایز بر اساس شدت برای فرمول D_2 (راست) و فرمول E_2 (چپ)

Standard Calibration of Doxorubicin HCl in PBS



نمودار ۳: کالیبراسیون داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید در PBS



نمودار ۴: پروفایل رهائش فرمولاسیون های D_2 و E_2 در دمای $37^\circ C$ و اسیدیته ۷/۴

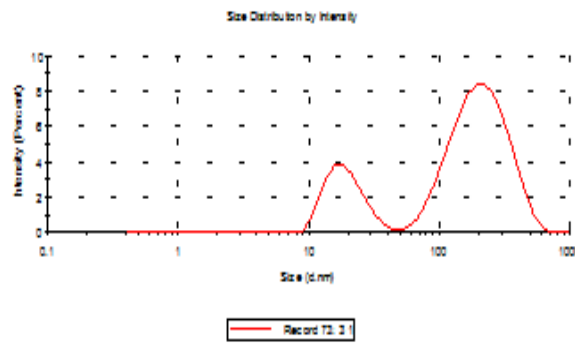
$37^\circ C$ و اسیدیته ۷/۴، برای فرمول E_2 ، $34/5$ درصد و برای فرمول D_2 ، $32/4$ درصد است. هم چنین بررسی پروفایل

با توجه به معادله خط کالیبراسیون دوکسوروبیسین هیدروکلراید در PBS (نمودار ۳)، حداکثر رهائش دارو در دمای

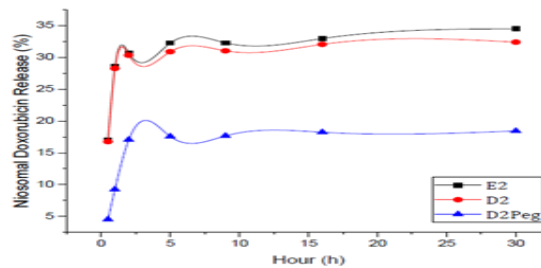
مقدار انکپسولاسیون در فرمول نهایی پگیله شده (فرمول D_2 -PEG)، نشان می‌دهد که درصد درون‌گیر شدن دارو در این فرمولاسیون، $0.38 \pm 94.6\%$ درصد است که نسبت به فرمولاسیون نهایی پگیله نشده (فرمول D_2) حدود 0.6% درصد کاهش یافته است. هم چنین سایز ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا در فرمول D_2 -PEG، به ترتیب، $86/57$ nm، 0.755 و -11 mV است که اندازه ذرات و شاخص پراکندگی در اثر پگیله شدن نسبت به فرمول نهایی پگیله نشده (فرمول D_2)، افزایشی محسوسی یافته است و پتانسیل زتا نسبت به فرمول پگیله نشده منفی تر شده است.

رهایش دارو در فرمول‌های E_2 و D_2 ، (نمودار ۴) نشان می‌دهد که شیب نمودار رهایش دارو برای هر دو فرمول در ۵ ساعت اولیه، نسبتاً تند ولی در ادامه شیب نمودار رهایش دارو کم می‌شود. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از بررسی پارامترهای سایز، شاخص پراکندگی ذرات، پتانسیل زتا و پروفایل رهایش دارو، برای فرمول‌های E_2 و D_2 ، فرمول D_2 ، به عنوان فرمول نهایی به منظور بررسی اثر پلیمر DSPE-mPEG2000 ($0.2M$) و لیپید DOTAP ($0.2M$) بر آن انتخاب می‌گردد.

بررسی اثر پگیله کردن (افزودن پلیمر DSPE-mPEG2000، بر فرمولاسیون نهایی (فرمول D_2))



تصویر ۲: توزیع اندازه ذره بر اساس شدت برای فرمول D_2 -peg



نمودار ۵: پروفایل رهایش فرمولاسیون‌های E_2 ، D_2 و D_2 peg در دمای $37^\circ C$ اسیدیته 7.4

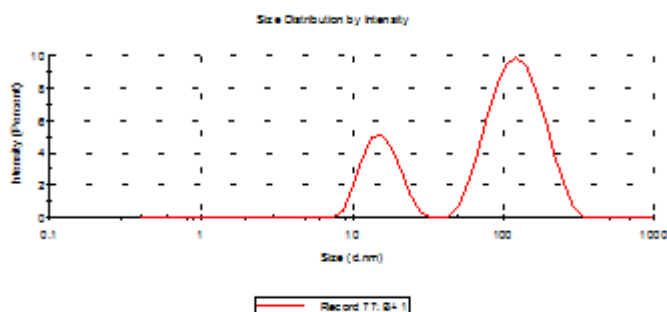
بررسی اثر لیپید DOTAP بر فرمولاسیون D_2 PEG

به منظور بررسی اثر لیپید DOTAP بر نیوزوم‌های پگیله D_2 -Peg به مقدار 0.2% کاتیون DOTAP به ساختار نیوزومی یاد شده افزوده شد و نتایج آن به شرح ذیل می‌باشد. در اثر افزودن DOTAP به فرمولاسیون D_2 PEG، درصد انکپسولاسیون داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید در نانوسامانه به $91/8 \pm 0.43\%$ کاهش یافته است. اندازه و شاخص پراکندگی ذرات در فرمولاسیون جدید حاصل از افزودن DOTAP (D_2 PegTAP)

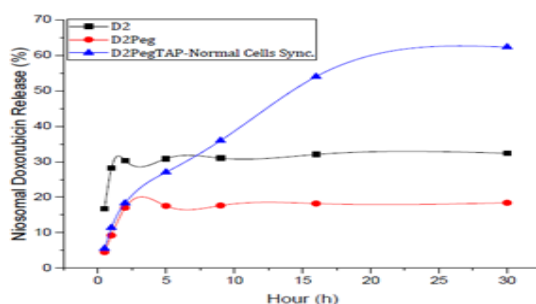
هم چنین بررسی پروفایل رهایش دارو در دمای $37^\circ C$ و اسیدیته 7.4 ، برای فرمول D_2 -PEG، (نمودار ۵) ضمن تایید آهسته رهش بودن سامانه، نشان می‌دهد که در مدت ۳۰ ساعت، حداکثر رهایش دارو $18/4\%$ درصد است که نسبت به فرمول‌های E_2 و D_2 ، کاهش قابل توجهی داشته است. منحنی رهایش دارو در فرمول D_2 -PEG نشان می‌دهد که همانند فرمول‌های E_2 و D_2 ، شیب منحنی رهایش در ۵ ساعت اولیه، نسبتاً تند و سپس کند می‌شود.

هم چنین سایز، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا برای فرمولاسیون D₂PegTAP فاقد داروی دوکسوروبیسین به ترتیب ۱۷۷/۴nm، ۰/۲۶۹ و -۷/۳۵mV می باشد که مشخص می شود با افزودن دارو به فرمولاسیون D₂PegTAP، اندازه و شاخص پراکندگی ذرات کاهش یافته و پتانسیل زتا مثبت تر شده است.

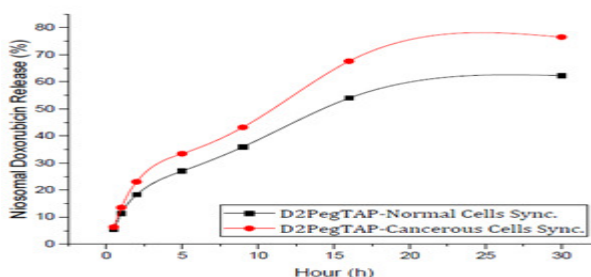
به ترتیب، ۹۲/۵۹ nm و ۰/۱۹۶، می باشد که نشان می دهد، بر اثر افزودن لیپید DOTAP، به فرمولاسیون D₂PEG، اندازه ذرات افزایش یافته و شاخص پراکندگی ذرات کاهش یافته است. پتانسیل زتای فرمولاسیون جدید D₂PegTAP، mV -۳/۵ است که نسبت به فرمولاسیون D₂PEG، از شارژ سطحی آن کاسته شده است.



تصویر ۳: توزیع اندازه ذرات بر اساس شدت برای فرمول D₂Peg-TAP



نمودار ۶: پروفایل رهائش دارو برای فرمول ها D₂ و D₂PEG و D₂-PegATP در دمای ۳۷ °C و اسیدیته ۷/۴



نمودار ۷: پروفایل رهائش دارو برای فرمولاسیون D₂PegTAP در شرایط سلول سرطانی و شرایط سلول نرمال هم چنین حداکثر رهائش دارو برای فرمولاسیون D₂-Peg-TAP در ۳۰ ساعت، تحت شرایط سلول سرطانی (۴/۵ و اسیدیته ۵/۴)، حدود ۷۶/۵ درصد می باشد (نمودار ۷).

بررسی پروفایل رهایش دارو در شرایط سلول نرمال (۳۷C و اسیدیته ۷/۴)، برای فرمولاسیون D₂-Peg-TAP، (نمودار ۶) نشان می‌دهد که حداکثر رهایش دارو در ۳۰ ساعت، ۶۲/۳ درصد است که نسبت به فرمولاسیون D₂ و D₂-Peg افزایش چشم گیری داشته است (نمودار ۶).

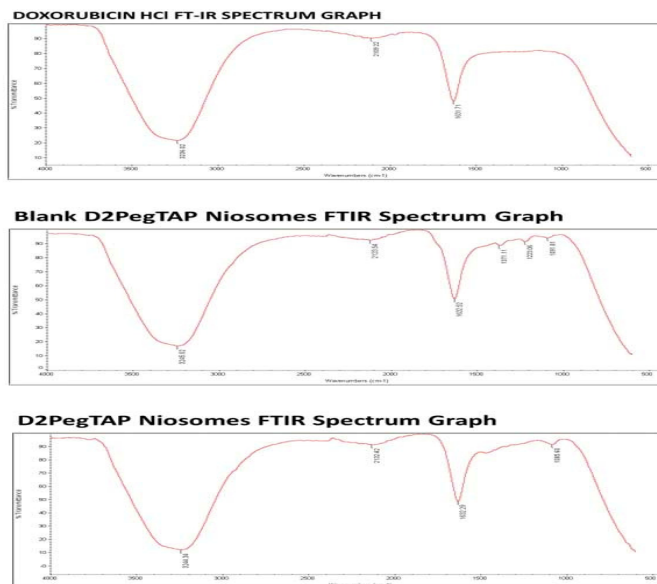
نتایج بررسی طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR) فرمولاسیون D₂-Peg-TAP

بررسی طیف FT-IR برای دوکسوروبیسین هیدروکلراید (تصویر ۴، بالا)، پیک های شاخص cm⁻¹ ۱۶۳۱/۷۱، ۳۲۳۶/۰۲ و ۲۱۰۹/۲۲ را نشان می‌دهد. که پیک cm⁻¹ ۳۲۳۶/۰۲ مشخصه داروی دوکسوروبیسین و پیک cm⁻¹ ۱۶۳۱/۷۱ مشخص کننده گروه عاملی C=O می باشد. مقایسه طیف FT-IR سامانه نیوزومی D₂-Peg-TAP فاقد دارو (تصویر ۴، وسط) و سامانه نیوزومی D₂-Peg-TAP حاوی دارو (تصویر ۴، پایین) نشان می‌دهد که جابه جایی های بسیار کمی به سمت چپ میان پیک های cm⁻¹ ۳۲۴۵/۰۲ به

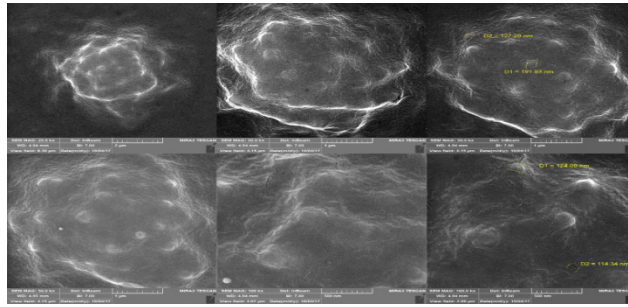
میان سامانه نیوزومی و دارو برهمکنشی وجود ندارد.

بررسی تصویر میکروسکوپ FE-SEM از فرمولاسیون D₂-Peg-TAP

تصاویر FE-SEM گرفته شده از نمونه های نیوزومی نشان دهنده مورفولوژی کروی و صاف نانوسامانه نهایی است. اندازه های تأیید شده در رنج نمودار توزیع اندازه ذرات، و تأییدکننده آن است.



تصویر ۴: طیف IR دوکسوروبیسین هیدروکلراید (بالا)، فرمولاسیون نیوزومی فاقد دارو با کد D2PegTAP (وسط) و فرمولاسیون نیوزومی دارای دارو با کد D2PegTAP



تصویر ۵: تصاویر FESEM از فرمولاسیون نیوزومی نهایی

بحث

پژوهش پیش رو نشان می دهد که فرمولاسیون نهایی (D₂) Peg-TAP نانوسامانه های نیورومی تهیه شده با درصد انکپسولاسیون ۰/۴۳ ± ۹۱/۸، بعد از گذشت ۳۰ ساعت حداکثر رهایش دارو توسط آن در شرایط سلول عادی و شرایط سلول سرطانی به ترتیب ۶۲/۳ و ۷۶/۵ درصد بوده است. آنالیز نانو ذره با دستگاه DLS تأیید می کند که فرمولاسیون نهایی نیوزومی ضمن برخورداری از سایز nm ۹۲/۵۹ و شاخص پراکندگی ۰/۱۹۶، آنیونی بوده است. هم چنین نتایج حاصل از طیف FT-IR و بررسی تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی، نشان می دهد که دارو و نانوسامانه برهم کنش شیمیایی نداشته اند و نانو ذرات حاصل ضمن برخورداری از اندازه و توزیع مناسب، دارای شکل کروی و سطحی صاف می باشند. در این میان عدم استفاده از بافر خونی به جای PBS و عدم بررسی های بالینی نانوذره حاصل، از جمله کاستی های پژوهش حاضر می باشد، که رفع آن به پژوهش گران بعدی پیشنهاد می گردد.

زارعی و همکاران در سال ۲۰۱۳، نانونیوزوم های ساده و پگیله شده حاوی پاکلی تاکسل با روش تزریق اتر و فاز معکوس تهیه نمودند که اندازه بازده درون گیری دارو در وزیکول های ساده و پگیله حاصل از تزریق اتر به ترتیب، ۹۳/۸ و ۹۶/۸ درصد و اندازه بازده درون گیری دارو در وزیکول های ساده و پگیله حاصل از تبخیر فاز معکوس به ترتیب ۹۰/۵ و ۹۴/۳ گزارش شده است. هم چنین این پژوهش نشان می دهد که اندازه وزیکول های ساده و پگیله حاصل از تزریق اتر به ترتیب، ۴۱۰/۶ و ۲۹۲/۷ نانومتر و اندازه وزیکول های ساده و

پگیله حاصل از تبخیر فاز معکوس به ترتیب ۴۸۱/۲ و ۳۷۳/۱ نانومتر بوده است (۲۲). Fang و همکاران در سال ۲۰۱۳، نانولیپوزوم های حاوی دوکسوروبیسین تهیه نموده که اندازه ذرات حاصل را ۵۰-۷۰ nm و درصد بارگذاری دارو را ۲۱ تا ۵۱ درصد گزارش نموده اند (۲۳). اندازه ذرات در پژوهش حاضر نسبت به پژوهش Fang همکاران بزرگ تر ولی از درصد درون گیری بالاتری برخوردار هستند.

زارعی و همکاران در سال ۲۰۱۴، سامانه های نیوزومی و لیپوزومی حاوی پاکلی تاکسل تهیه نموده اند که اندازه بازده درون گیری دارو در وزیکول های لیپوزومی ساده و پگیله به ترتیب، ۹۳/۶ و ۹۸/۹ درصد و اندازه بازده درون گیری دارو در وزیکول های لیپوزومی ساده و پگیله به ترتیب ۸۰/۴ و ۸۴/۷ درصد گزارش شده است. هم چنین این پژوهش نشان می دهد که اندازه وزیکول های نیوزومی ساده و پگیله به ترتیب، ۲۱۱/۵ و ۱۴۶/۹ نانومتر و اندازه وزیکول های لیپوزومی ساده و پگیله به ترتیب، ۴۱۰/۷ و ۳۶۱/۳ نانومتر بوده است (۲۴).

کوهی مفتخری اصفهانی در سال ۲۰۱۴، نانولیپوزوم های پگیله حاوی داروی پاکلی تاکسل تهیه نمودند که این نانوسامانه های دارویی دارای انکپسولاسیون ۹۵/۲ درصد و اندازه در مقیاس نانویی بودند (۲۵).

بابایی و همکاران در سال ۲۰۱۶، پژوهشی با هدف مقایسه تاثیر دو روش تبخیر فاز معکوس و تزریق اتر بر خواص نانوذرات نیوزومی حامل سیس پلاتین انجام دادند که نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، راندمان انکپسولاسیون و رهایش دارو در طی ۴۸ ساعت برای روش تبخیر فاز معکوس ترتیب، ۴۳/۶ و ۹۷/۵۳ درصد و برای روش تزریق اتر به ترتیب

به ترتیب، ۱۵/۶۵ درصد، nm ۱۳۸/۶ و ۷۸ درصد بوده است (۲۱). نادری نژاد و همکاران در سال ۲۰۱۷، وزیکول‌های نیوزومی حاوی کورکومین تهیه نمودند که دارای سایزی معادل nm ۲۴۲ راندمان انکپسولاسیون ۹۵/۲ درصد، پتانسیل زتای -۳۸- میلی ولت و شاخص پراکندگی ۰/۱۷ بودند. این پژوهش نشان می‌دهد که حداکثر رهائش دارو در طی ۹۶ ساعت ۴۳/۸۷ درصد است (۳۱). اندازه ذرات فرمولاسیون پگیله پژوهش حاضر نسبت به پژوهش نادری نژاد و همکاران کمتر و از شارژ سطحی مثبت تری برخوردار بوده است.

حقیرالسادات و همکاران در سال ۲۰۱۸ فرمالوسیون‌هایی از لیپوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین تهیه کردند که درصد انکپسولاسیون در همه فرمولاسیون‌ها بالای ۸۲ درصد و پتانسیل زتای فرمولاسیون‌های مختلف تهیه شده از ۲۳- تا ۲۲/۴+ متغیر بوده است. هم‌چنین این پژوهش گزارش می‌دهد که در مدت ۴۸ ساعت، ۴۳ درصد دارو از لیپوزوم‌ها آزاد شده است (۳۲). نیوزومه بودن ذرات، انکپسولاسیون بیشتر و پتانسیل زتای مثبت تر از مزایای پژوهش حاضر نسبت به پژوهش حقیرالسادات و همکاران است.

مجدی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۸، نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس نعناع فلفلی تهیه نمودند که وزیکول‌های لیپوزومی حاوی اسانس با اندازه nm ۱۳/۳۹ ± ۲/۷، ۲۴۷ ± ۰/۷۴ درصد میزان راندمان انکپسولاسیون، پتانسیل زتا ۰/۷۴ ± ۳۴/۵۴- میلی‌ولت و شاخص پراکندگی ۰/۰۱ ± ۰/۳۲ می‌باشد (۲۰). ساسانی و همکاران در سال ۲۰۱۸، هیبریدهای لیپونیوزومی حاوی کورکومین تهیه نمودند که به ترتیب دارای اندازه، پتانسیل زتای و راندمان احتباس، ۱۴۷/۵ نانومتر، -۸/۹- میلی ولت و ۱/۸۵ ± ۹۸/۱۲ درصد می باشد (۳۳).

بهرامی بنان در سال ۲۰۱۸، ضمن ساخت سامانه‌های نیوزومی حاوی داروی دوکسوروبیسین ارزیابی میزان سمیت آن را بر رده KG-1 مغز استخوان گزارش نمودند که وزیکول‌های نیورومی حاصل به ترتیب دارای اندازه، پتانسیل زتای و راندمان انکپسولاسیون، ۱۶۰/۳۷ ± ۲/۶۵ نانومتر، ۵۸/۱۱- میلی ولت ۹۴/۱۸ درصد می باشد (۳۴). پتانسیل

۵/۲۸ و ۸۱/۲۳ درصد می‌باشد. هم‌چنین این پژوهش گزارش می‌دهد که اندازه، شاخص پراکندگی ذرات و پتانسیل زتا برای روش تبخیر فاز معکوس به ترتیب، ۲۴۲/۱ نانومتر، ۰/۲۴۲ و ۲۳/۴- میلی‌ولت و برای روش تزریق اتر به ترتیب، ۶/ ۲۱۸ نانومتر، ۰/۲۰۲ و ۱۹/۶- میلی ولت است (۲۶).

بابایی و همکاران در سال ۲۰۱۶، نانونیوزوم‌های حاوی سیس‌پلاتین در ابعاد نانویی با هدف اثرگذاری بر سرطان پستان تهیه نمودند که راندمان انکپسولاسیون و میزان رهائش داروی آن در طی ۴۸ ساعت به ترتیب، ۴۳/۶ و ۹۷ درصد گزارش نموده است (۲۷).

Alyane و همکاران در سال ۲۰۱۶، نانولیپوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین به روش شیب گرادیان تهیه نمودند که اندازه ذرات حاصل nm ۱۱۰ و بازده درون‌گیری دارو درون لیپوزوم‌ها را ۹۰ درصد گزارش نموده اند (۲۸). حقیرالسادات و همکاران در سال ۲۰۱۶، داروی دوکسوروبیسین را با هدف اثرگذاری بر سرطان استخوان درون حامل‌های لیپوزومی بارگذاری کردند که نانو سامانه‌های ساخته شده ضمن برخورداری از انکپسولاسیون ۸۹ درصد، دارای سایزی در حدود nm ۱۲۶ بودند. حداکثر رهائش داروی دوکسوروبیسین در مدت ۴۸ ساعت در این پژوهش، ۴۶ درصد بوده است (۲۹). نیوزومه بودن ذرات و انکپسولاسیون بیشتر از مزایای پژوهش حاضر نسبت به پژوهش حقیرالسادات و همکاران است.

Hghiralsadat و همکاران در سال ۲۰۱۷، فرمولاسیون جدیدی برای تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین پیشنهاد نمودند که سایز متوسط وزیکول‌ها، بازده درون‌گیری، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتای فرمول پیشنهاد شده به ترتیب nm ۹۳/۶۱، ۸۲/۸، ۰/۱۴ و ۲۳- بوده اند (۳۰). حقیرالسادات و همکاران در سال ۲۰۱۷، نانولیپوزوم‌هایی حاوی داروی دوکسوروبیسین به دو روش شیب گرادیان PH و لایه نازک تهیه نمودند که بازده درون‌گیری، اندازه و رهائش دارو در مدت ۴۸ ساعت برای نانولیپوزوم حاصل از شیب گرادیان به ترتیب، ۸۹ درصد، nm ۱۰۵/۹ و ۲۴ درصد و برای نانولیپوزوم‌های حاصل از لایه نازک

قدیمی لیپوزومی باشند. اصلاح سطحی با فسفولیپید شارژ مثبت و تبدیل سامانه به یک سامانه Stealth با بهره گیری از پوشش DSPE-mPEG خود گواه این مهم است که امکان هرگونه دستکاری سطحی و هدف مندی برای این حامل دارویی و رسانش دارو به تومور وجود دارد. دست یابی به استراتژی های نوین و اصلاحات سطحی نانوسامانه نظیر مطالعه حاضر می تواند با بهبود عملکرد رسانش سیستم دارورسانی به سلول های سرطانی جایگزینی مناسب برای سیستم های دارورسان معمول بوده و گره گشای مشکلات ناشی از عوارض جانبی داروهای شیمی درمانی باشند.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر حاصل پایان نامه آقای هاشم شاهی مال میر، دانشجوی کارشناسی ارشد موسسه آموزش عالی نور دانش است. لازم به توضیح است که تمامی منابع مالی این پژوهش توسط نویسنده اول تامین گردیده است. **تعارض در منافع:** وجود ندارد.

زتای مثبت تر و اندازه ذرات کوچک تر از جمله مزایای پژوهش حاضر نسبت به پژوهش بهرامی بنان می باشد.

نتیجه گیری

در این مطالعه ضمن بررسی ویژگی های فیزیکوشیمیایی فرمولاسیون های نیوزومی مختلف حاوی دوکسوروبیسین هیدروکلراید، فرمولی برای انکپسولاسیون پیشنهاد شد که مشخصه های فیزیکوشیمیایی مناسب آن از جمله؛ اندازه و شاخص پراکندگی مناسب، پتانسیل زتای بسیار مطلوب آنیونی و نزدیک به خنثی، میزان درون پوشانی بسیار بالا، الگوی رهایش هدفمند و نیز عدم ایجاد پیوند های شیمیایی جدید میان دارو و سامانه، توسط چندین آزمایش تأیید گردیده است. این مطالعه اگر تنها مطالعه موجود بر بهینه سازی فرمولاسیون های نیوزومی دوکسوروبیسین با بهره گیری از اثر توئین-۲۰ و فسفولیپید کاتیونی DOTAP نباشد؛ از معدود مطالعات در این حوزه است. با تکیه بر نتایج به دست آمده حاصل از مشخصه یابی نانوسامانه های نیوزومی می توان ادعان نمود که این حامل های مقرون به صرفه می توانند جایگزینی مناسب برای حامل های

References:

- 1-Pecorino Lauren. *Molecular biology of cancer mechanism, targets and therapeutics*. 3th ed. United Kingdom: Oxford University Press; 2012.
- 2-Cancer Control: a Global Snapshot in Summary of Results From the 2015 Who Ncd Country Capacity Survey, world Heal. Organ 2015; 1-6.
- 3-American Cancer Society, Cancer Facts & Figures 2016, Cancer Facts Fig 2016; 1-9.
- 4-Tacar O, Sriamornsak P, Dass CR. *Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems*. J Pharm Pharmacol 2013; 65(2): 157-70.
- 5-Hurley LH. *DNA and its associated processes as targets for cancer therapy*. Nat Rev Cancer 2002; 2(3): 188-200.
- 6-Scaife J, Kerr D. *Antimetabolites in cancer therapy*. In: Anticancer therap. United States: Wiley-Blackwell 2008; 91-3.
- 7-Tiwari M. *Antimetabolites: Established cancer therapy*. J Cancer Res Therapeutics; Mumbai 2012; 8(4): 510-9.
- 8-Ganugapati J, Mukundan M, Mandava A, Jaikumar Ahuja S. *Insilico Analysis Of Vinca*

- Alkaloids As Antimitotic And Antimicrotubule Agents: A Potential Cure For Cancer*. Ijpsr 2015; 6(7): 2841-2845.
- 9-Renoir JM, Marsaud V, Lazennec G. *Estrogen receptor signaling as a target for novel breast cancer therapeutics*. Biochem Pharmacol 2013; 85(4): 449-65.
- 10- Waksman SA, Woodruff HB. *Actinomyces antibioticus, a new soil organism antagonistic to pathogenic and non-pathogenic bacteria*. J Bacteriol 1941; 42(2): 231-49.
- 11- Pigram WJ, Fuller W, Hamilton LD. *Stereochemistry of intercalation: interaction of daunomycin with DNA*. Nature 1972; 235(53): 17-19.
- 12- Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Santos MS, Moreira PI. *Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect*. Curr. Med. Chem 2009; 16(25): 3267-85.
- 13- Shepherd GM. *Hypersensitivity reactions to chemotherapeutic drugs*. Clinical reviews in allergy & immunology. 2003 Jun 1;24(3):253-62.
- 14- Karewicz A, Bielska D, Loboda A, Gzyl-Malcher B, Bednar J, Jozkowicz A, et al. *Curcumin-containing liposomes stabilized by thin layers of chitosan derivatives*. Colloids Surfaces B Biointerfaces 2013; 109(1): 307-16.
- 15- Mirahmadi N, Babaei MH, Vali AM, Dadashzadeh S. *Effect of liposome size on peritoneal retention and organ distribution after intraperitoneal injection in mice*. Int J Pharm 2010; 383(1): 7-13.
- 16- Jain S, Jain V, Mahajan SC. *Lipid Based Vesicular Drug Delivery Systems*. Adv Pharm 2014; 2014(1): 1-12.
- 17- Kuotsu K, Karim K, Mandal A, Biswas N, Guha A, Chatterjee S, Behera M. *Niosome: A future of targeted drug delivery systems*. J Adv Pharm Technol Res 2010; 1(4): 374-80.
- 18- Kumar A, Pal J, Jaiswal A, Singh V. *Review on niosomes as novel drug delivery system*. Int Res J Pharm 2011; 2(5): 61-5.
- 19- Mujoriya RZ, Dhamandeb K, Bodla RB. *Niosomal Drug Delivery System—A Review*. Int J Appl Pharm 2011; 3(1): 7-10.
- 20- Majdizadeh M, Zarchi SR, Movahedpour AA, Malmir HS, Sasani E, Haghirsadat BF. *A new strategy in improving therapeutic indexes of medicinal herbs: preparation and characterization of nano-liposomes containing Mentha piperita essential oil*. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 25(11): 853-64.[Persian]
- 21- Haghirsadat BF, Amouabedini G, Naderinezhad S, Sheikhha MH, Malaeibalasi Z, Akbaezadeh A, et al. *An evaluation of the transmembrane ammonium sulfate gradients method in lipid system to improve trapping capacity of amphipathic weak*. New Cell Mol Biotechnol J 2017; 7(28): 49-60. [Persian]
- 22- Zarei M, Arjmand M, Chiyani M, Ebrahimi H, Akbaezadeh A. *Paclitaxel*

- formulation and survey of its Cytotoxic Effect on breast cancer cell line (MCF-7)*. New Cell Mol Biotechnol J 2013; 3(12):17-23. [Persian]
- 23- Fang Y, Wu X, Chen J, Dang S, Jiang D, Chen M, et al. *Preparation and Characterization of mPEG Modified Magnetic Long-Circulating Doxorubicin Hydrochloride Liposomes*. Adv Mater Res 2013; 661: 87-90.
- 24- Zarei M, Arjmand M, Mohammadi M, Chiani M, Ebrahimi H, Akbaezadeh A. *Preparation and in vitro evaluation of nanoniosomal pegylated paclitaxel and nanoliposomal pegylated pclitaxel*. New Cell Mol Biotechnol J 2014; 4(15):107-13. [Persian]
- 25- Maedeh koochi moftakhari esfahani, Alavi seyed ebrahim, Akbaezadeh A. *Drug delivery of pegylated nanoliposomal paclitaxel to breast*. New Cell Mol Biotechnol J 2014; 4(14):47-50.
- 26- Babaei M, Fasanadegan-rudsari M, Rashidi N, Arjmand M, Akbarzadeh A. *The comparison of reverse phase evaporation and ether injection synthesis methods on cisplatin-loaded niosomal nanoparticles properties*. New Cell Mol Biotechnol J 2016; 6(22): 59-64.
- 27- Babaei M, Akbarzadeh A, Arjmand M, Seif-kordi ali akbar. *Evaluation the effect of nanoniosomal cisplatin on brain cancer cell line C6*. NCMB J 2016; 6(23): 61-4.
- 28- Alyane M, Barratt G, Lahouel M. *Remote loading of doxorubicin into liposomes by transmembrane pH gradient to reduce toxicity toward H9c2 cells*. SAUDI Pharm J 2016; 24(2):165-75.
- 29- Haghirsadat BF, Amouabedini G, Sheikhha MH, Mohammadnezhad MJ, Nadernezhad S, Malaei-balasi Z, et al. *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*. J Shahid Sdoughi Uni Med Sci Yazd 2016; 24(10):780-9.
- 30- Haghirsadat F, Amoabediny G, Sheikhha MH, Zandieh-doulabi B, Naderinezhad S, Helder MN, et al. *New liposomal doxorubicin nanoformulation for osteosarcoma: Drug release kinetic study based on thermo and pH sensitivity*. Chem Biol Drug Des 2017; 90(3): 368-79. [Persian]
- 31- Naderinezhad S, Haghirsadat BF, Amouabedini G, Naderinezhad A, Esmaeili Z, Akbaezadeh A. *Synthesis of biodegradable and self-assembled anionic nano-carrier: Novel approach for improvement of Curcumin- delivery to bone tumors cells & Mathematical modeling of drug-release kinetic*. New Cell Mol Biotechnol J 2017; 7(27): 77-84.
- 32- Haghirsadat BF, Nadernezhad S, Amoabediny G, Montazeri F, Zandieh-doulabi B. *effects of surface charge on cytotoxicity of liposomal Doxorubicin on bone cancer cell line* 2018; 133(25): 19-27. [Persian]

- 33- Sasani E, Shahi Malmir H, Daneshmand F, Majdizadeh M, Haghirsadat BF. *A new study on synthesize and optimization of PEGylated LipoNiosomal nanocarriers containing curcumin for use in cancer chemotherapy*. SSU J 2018; 26(6): 528-41. [Persian]
- 34- Bahrami-Banan F, Hasan Sheikhha M, Ghasemi N, Majdizadeh M, Haghirsadat BF. *Preparation and Study of Nano-Niosomes Containing Doxorubicin and Evaluation of its Toxicity on Acute Myeloblastic Leukemia Cell Line KG-1*. J Payavard Salamat 2018; 12(4): 309-23. [Persian]

Synthesis and optimization of niosomal carriers containing doxorubicin in order to achieve a final formulation with high potential in cancer cells temperature and acidity

Hashem Shahi Malmir¹, Seyed Mehdi Kalantar², Elham Sasani³, Morteza Asgari⁴,
Mohammad Majdi zadeh⁵, Bibi Fatemeh Haghirsadat^{*6}.

Original Article

Introduction: Doxorubicin is one of the most commonly used drugs in chemotherapy with many side effects; this fact has limited its use. In the present study, based on the knowledge of pharmaceutical nanocarriers, various formulations of the niosomal form of this drug were synthesized and surface optimizations were applied to the final selected formulation.

Methods: The present study was an experimental study. Various formulations of niosomal systems were synthesized by the method of thin-film hydration and using Tween60 and cholesterol. Doxorubicin was encapsulated through niosome inactively. In the following, optimizations were made based on choosing two formulas out of six experimentally, then the effects of adding Tween20, DSPE-mPEG(2000) polymer and cationic phospholipid of DOTAP (respectively) was investigated. Then, physiochemical properties of nanocarriers were determined from the perspective of encapsulation efficiency, drug release profile under healthy and cancerous cells condition, hydrodynamic diameter, Poly Dispersity Index, zeta potential, morphology and Infrared spectroscopy(IR) spectrum. To plot the graphs and express the data Origin and Excel software were used, respectively.

Results: The optimized final niosome formula had 98.59 nm in diameter, 91.8 ± 0.43 , -3.5 mV zeta potential and 0.196 PDI. The maximum release of drug from the nanocarrier under conditions of healthy and cancerous cells (37°C , $\text{pH}=7.4$ and 42°C , $\text{pH}=5.4$) after 48 hours was 62.3% and 76.5% respectively. Field Emission Scanning Electron Microscope and IR assessments revealed spherical morphology and the absence of chemical interaction between nanocarrier and drug.

Conclusion: The findings of this study prove this drug carrier to be semi-targeting. It also shows that niosome by specializing the drug delivery increases the effectiveness of drug and the life quality of patient while reducing the side effects, all without any change in the chemical nature of the drug.

Keywords: Drug Carriers, Niosome, Doxorubicin, Anticancer, Drug Liberation.

Citation: Shahi Malmir H, Kalantar SM, Sasani E, Asgari M, Majdizadeh M, Haghirsadat F. **Synthesis and optimization of niosomal carriers containing doxorubicin in order to achieve a final formulation with high potential in cancer cells temperature and acidity.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2019; 26(10): 879-94.

¹Department of Biology, Nourdanesh Institute of Higher Education, Meymeh, Isfahan, Iran.

²Biotechnology Research Center, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran.

³Department of Biology, Taft Payame Noor University, Yazd, Iran.

⁴Department of Biology, Nourdanesh Institute of Higher Education, Meymeh, Isfahan, Iran.

⁵Nano-Biotech Foresight Company Biotechnology Campus, Science & Technology Park of Yazd, Yazd, Iran.

⁶Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09132507158, email: FHaghirsadat@gmail.com