

بررسی اثر نانوذرات لیپیدی حاوی داروی ضد سرطان سیلیبینین بر مهار رشد

سلولی در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان

ارسلان کریمی مقدم^۱، نرگس نیکونهاد لطف آبادی^{۱*}، بی بی فاطمه حقیرالسادات^۲، محمد مجدی زاده^۳

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه علم و هنر یزد، ایران.
۲. گروه علوم و فنون نوین، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۳. گروه زیست فناوری، شرکت ریز زیست فناوران فردانگر، پارک علم و فناوری یزد، یزد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: سیلیبینین ترکیبی فلاونو لیگنان است که از گیاه *Silybum marianum* استخراج می‌شود و خواص ضد سرطانی آن بر روی سلول‌های پستان مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از این مطالعه، تهیه و ارزیابی فیزیوشیمیایی فرمولاسیون‌های مختلفی از سامانه‌ی نیوزومی حاوی سیلیبینین به منظور دستیابی به فرمولاسیونی هدفمند، جهت مبارزه بهتر با سلول‌های سرطان پستان است.

روش‌ها: نانوحامل‌ها با استفاده از نسبت‌های مولی مختلف از کلسترول و پلی سوربات ۲۰ و ۶۰ سنتز و از میان ۹ فرمولاسیون سنتزی، بهترین فرمولاسیون با استناد به بازده درون‌گیری انتخاب گردید. در ادامه الگوی رهایش دارو در محیط شبیه سلول سرطانی، اندازه، بار سطحی نانو حامل، برهمکنش دارو و نانو سامانه با بررسی طیف‌های IR و مورفولوژی ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی گردید. در پایان میزان سمیت سیلیبینین نیوزومه بر رده سلولی MCF-7 به روش MTT تعیین شد.

نتایج: فرمولاسیون نهایی حاوی سیلیبینین، دارای اندازه‌ی ۱۱۸ نانومتر، بازده انکپسولاسیون $92/87 \pm 5$ ٪، پتانسیل زتا $0/9 \pm 31/33$ میلی‌ولت می‌باشد. حداکثر رهایش دارو از نانو سامانه در شرایط سلول‌های سرطانی، طی ۴۸ ساعت $89/03$ ٪ بوده است. بررسی نتایج حاصل از MTT نشان داد که میزان سمیت سیلیبینین انکپسوله نسبت به سیلیبینین انکپسوله نشده بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان بیشتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که سامانه‌ی نیوزومی با برخورداری از ویژگی‌های فیزیوشیمیایی مناسب، باعث افزایش سمیت سیلیبینین بر رده سلولی MCF-7 گردیده است. بنابراین می‌تواند حاملی مناسب برای رسانش دارو به سلول‌های سرطانی باشد.

کلید واژه‌ها:

نیوزوم، سیلیبینین، حامل‌های دارویی، عامل ضد سرطان، سلول‌های MCF-7

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

مقدمه

و سلول‌های عادی به فرایندهای دقیق کنترل چرخه سلولی پاسخ نمی‌دهند و در اثر تکثیر کنترل نشده‌ی این سلول‌ها، توده‌ای از سلول‌ها بنام تومور ایجاد می‌شود (۱-۳).

سرطان پستان از شایع‌ترین سرطان‌ها در زنان و دارای بیشترین میزان مرگ و میر در سطح جهان می‌باشد. به گونه‌ای که از هر ۹ زن، یک نفر در طول عمر خود، این بیماری را تجربه

سرطان به مجموعه‌ای از بیماری‌ها اطلاق می‌شود که شاخص مشترک همه آن‌ها، از حذف محدودیت‌های تقسیم سلولی است که معمولاً می‌تواند در هر بافتی از بدن روی دهد. فرایند اصلی این بیماری کشنده، در انواع مختلف آن یکسان است که طی آن بر اثر تغییرات ژنتیکی ناشی از هورمون‌ها، مواد شیمیایی و گاهی اوقات ویروس‌ها، تنظیم چرخه سلولی دچار نقض می‌شود

پیشنهاد شده و اثر ضد سرطانی آن در درمان سرطان های اپیتلیالی مانند پوست، پروستات و ریه مشخص شده است (۱۰). در میان تمامی این مزایا، استفاده از ترکیبات گیاهی با چالش های جدی از جمله، اثرگذاری نامطلوب بر ارگان های غیر هدف و اکسید شدن برخی از مواد موثره روبرو است، که فناوری نانو با ساخت و تهیه نانو حامل های دارویی از جمله لیپوزوم و نیوزوم توانسته است برخی از مشکلات یاد شده را کاهش داده و یا برطرف نماید. نیوزوم ها و زیکولهای سورفاکتانت غیر یونی هستند که در اثر هیدراتاسیون سورفاکتانت های غیر یونی مرکب یا بدون اختلاط کلسترول و دیگر چربی ها تشکیل می گردند. سیستم زیکولی آنها می تواند به عنوان حامل داروهای آبدوست (لیپوفیل) و آبگریز (هیدروفوب) استفاده شود. همچنین غیر یونی بودن آن باعث سمیت کمتر و محدود شدن واکنش آن با سلول می گردد که این امر به نوبه خود منجر به افزایش شاخص درمانی داروی کپسوله شده می گردد (۱۱). طراحی و ساخت آسان، هزینه اقتصادی پایین تر، سمیت کم تر، بازده درونگیری بالاتر، فراهمی زیستی بیشتر، انعطاف پذیری بالا در برابر تغییرات، امکان تغییر بار سطحی آن بصورت آسانتر و غیره از جمله مزایای نانوذرات نیوزومی نسبت به لیپوزوم ها هستند (۱۲). هدف از این مطالعه، تهیه و ارزیابی فیزیوشیمیایی فرمولاسیون های مختلفی از سامانه های نیوزومی حاوی سیلیبینین به منظور دستیابی به فرمولاسیونی هدفمند، جهت مبارزه بهتر با سلولهای سرطان پستان است.

روش کار

مواد شیمیایی: داروی سیلیبینین متعلق به شرکت Sigma آمریکا، کلسترول، پلی سوربات ۶۰ (Tween60) و پلی سوربات ۲۰ (Tween20) متعلق به شرکت Merck آلمان تهیه و خریداری شد.

رسم نمودار استاندارد سیلیبینین در ایزوپروپیل و بافر Phosphate buffered saline (PBS) به منظور رسم نمودار استاندارد سیلیبینین، غلظت های مختلفی از استوک سیلیبینین در ایزوپروپیل و PBS به روش سری استاندارد ساخته شد. سپس

می نماید (۴). سبب شناسی سرطان پستان چند عاملی بوده که مهم ترین آن، شامل سن، یائسگی دیررس، مصرف داروهای خوراکی ضد بارداری، هورمون درمانی، ژنتیک، سابقه بیماریهای خوش خیم پستان، چاقی مفرط و وزن بالا می باشد (۵).

به منظور درمان سرطان ها، معمولاً از سه روش جراحی، رادیودرمانی و شیمی درمانی استفاده می شود که در این بین شیمی درمانی با وجود داشتن محدودیتهایی از قبیل، هدفمند نبودن داروهای شیمی درمانی، نیازمند بودن به دوزهای بالای دارو برای مبارزه با سلولهای سرطانی، مقاومت دارویی و عوارض جانبی متعدد، هنوز هم بعنوان یکی از روش های درمانی موثر در مبارزه با سلولهای سرطانی بشمار می آید (۶)، عوارض قلبی، تاول زایی، ریزش مو (آلوپسی)، تاثیرات مخرب بر مغز استخوان و غیره از جمله عوارض ناخواسته ای حاصل از داروهای رایج شیمی درمانی است، که هر ساله گریبان شمار زیادی از بیماران مبتلا به سرطان را می گیرد (۸)، بنابراین دستیابی به درمان سرطان یکی از دغدغه های عمده پژوهشگران در زمینه پزشکی است و پژوهشگران بدنبال کشف عوامل ضد سرطانی با کمترین خطر و بیشترین اثر برای بیماران می باشند. مطالعات زیادی در زمینه ترکیبات دارویی با منشأ طبیعی توجه محققین را به خود جلب کرده است، که خاصیت ضد سرطانی برخی از آن ها به مرحله کار آزمایی بالینی رسیده است (۹).

سیلیمارین و ماده تشکیل دهنده آن سیلیبینین که از عصاره گیاه *Silybum marianum* به دست می آیند، از قدیم در درمان بیماری های زیادی از جمله بیماریهای کبدی مورد استفاده قرار گرفته است و ضمن برخورداری از خواص درمانی بالا، عوارض جانبی بسیار کمی دارد. این ترکیب آنتی اکسیدان ضمن احیا کردن رادیکالهای آزاد، می تواند مکانیسم های مختلفی از جمله تنظیم چرخه سلولی، مهار رگزایی، مهاجم و متاستاز را تحت تاثیر قرار دهد، بنابراین در درمان سرطان های مختلف مورد بررسی قرار گرفته و به عنوان یک داروی ضد سرطان

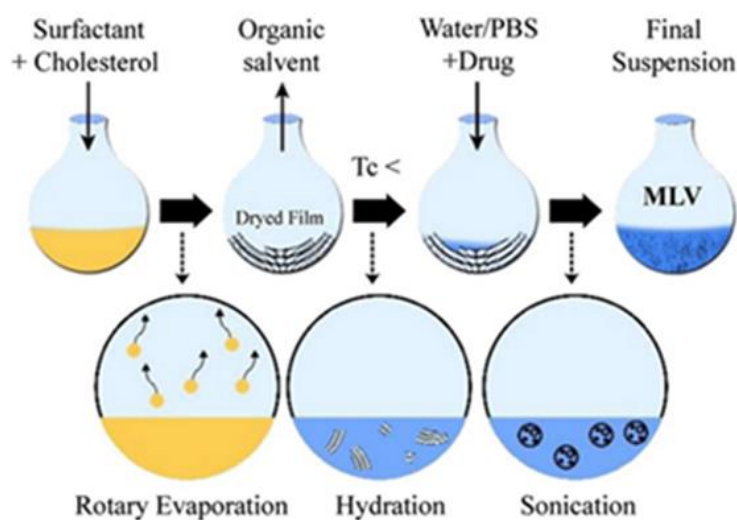
همراه سیلیبیین (جدول ۱)، در حلال کلروفرم و در دمای 42°C بر روی روتاری (هایدولف، آلمان) حل کرده و تحت شرایط خلأ، فیلم نازک خشک تهیه گردید. سپس عمل هیدراته کردن با افزودن مقدار مشخصی آب مقطر استریل، طی مدت ۶۰ دقیقه و در دمای 52°C انجام گردید. سپس نانوذرات تهیه شده، با استفاده از سونیکیت پروبی با توان ۶۰٪ (Amplitude) به مدت ۱۰ دقیقه (۱۰ ثانیه روشن و ۱۵ ثانیه خاموش) کاهش اندازه داده شد (۱۴). (شکل شماره ۱)

جذب نوری آنها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ماکزیم سیلیبیین (۲۴۰ nm)، با تکرارهای ۳ تایی گرفته شده و سپس نمودار کالیبراسیون رسم و معادله خط آن محاسبه گردید (۱۳).

تهیه‌ی نیوزومهای حاوی سیلیبیین: به منظور تهیه‌ی نانونیوزومهای حاوی سیلیبیین از روش هیدراتاسیون لایه نازک استفاده شد که خلاصه آن بدین شرح است: ابتدا توپین ۶۰ و توپین ۲۰ و کسترویل را به ترتیب با نسبتهای مولی به

جدول ۱. نسبتهای مولی مورد استفاده در ساخت فرمولاسیونهای نیوزومی

Formula Code	Tween-60 %	Cholesterol %	Tween-20	Drug / Lipid
A-1	۹۰	۱۰	$\mu\text{l}10$	۳۰
A-2	۸۰	۲۰	$\mu\text{l}10$	۳۰
A-3	۷۰	۳۰	$\mu\text{l}10$	۳۰
B-1	۹۰	۱۰	$\mu\text{l}10$	۲۰
B-2	۸۰	۲۰	$\mu\text{l}10$	۲۰
B-3	۷۰	۳۰	$\mu\text{l}10$	۲۰
C-1	۹۰	۱۰	$\mu\text{l}10$	۱۰
C-2	۸۰	۲۰	$\mu\text{l}10$	۱۰
C-3	۷۰	۳۰	$\mu\text{l}10$	۱۰



شکل ۱: تصویر مراحل ساخت نانو نیوزوم بروش هیدراتاسیون فیلم نازک (۱۵)

Nano-ZetaSizer ES در دمای اتاق و زاویه 90° اندازه‌گیری گردید.

آنالیز سامانه‌ی نیوزومی حاوی سیلیبیین، توسط دستگاه طیف سنجی مادون قرمز: هدف این مرحله بررسی برهمکنش-های شیمیایی میان سامانه نیوزومی و دارو است. برای این منظور حامل‌های نیوزومی با سانتریفیوژ از سوسپانسیون جدا شده و محلول اضافی تبخیر گردید. نمونه‌ها با پتاسیم برمید (KBr) مخلوط شده و در درون پلیت فشرده می‌شوند. طیف FT-IR به منظور بررسی گروه‌های عاملی نانو نیوزومی در محدوده طول موج $4000-400\text{ cm}^{-1}$ برای نمونه‌های جامد، و طیف AT-IR $600-400\text{ cm}^{-1}$ برای نمونه‌های مایع، اسکن گردید. در پایان، نمودار FT-IR دایوری سیلیبیین، سامانه نیوزومی فاقد دارو و سامانه نیوزومی حاوی دارو تهیه و با یکدیگر مقایسه گردیدند.

تصویربرداری از نانو نیوزومهای حاوی سیلیبیین

مقدار $25\ \mu\text{l}$ از نمونه حاوی داروی ساخته شده بر روی یک لام ریخته و محلول در مجاورت هوا خشک شد. نمونه‌ها چند ثانیه با طلا پوشش داده شده تا رسانا شوند. سپس مورفولوژی سطحی نانوحامل‌ها (زبری، شکل، صافی و توده‌ای شدن) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با قدرت 100 kX و 40 kX تهیه گردید.

رده سلولی و محیط کشت: در این مطالعه از رده سلول‌های سینه (MCF-7) استفاده شد که از بانک سلولی انستیتو پاستور (تهران، ایران) تهیه گردیده بودند. سلولهای این رده‌ی سلولی در فلاسک‌های یک بار مصرف کشت سلول در محیط کشت DMEM (Thermofisher – GIBCO U.S.A) غنی شده با Glutamine 10% ، FBS درصد 37°C با فشار 5% از CO_2 و 95% بخار آب کشت داده شد.

تعیین سمیت سلولی و بقای سلول: سمیت سلولی با روش MTT برای فرمولاسیون مطالعه شده به کارگرفته شد. به منظور اندازه‌گیری سمیت، سلول‌های MCF-7 سرطان پستان به

محاسبه راندمان انکپسولاسیون: جهت محاسبه‌ی میزان انکپسولاسیون سیلیبیین، ابتدا نانوحامل‌های حاوی سیلیبیین را بعد از کاهش سایز وارد کیسه دیالیز نموده و به مدت یک ساعت درون بشری محتوی بافر (PBS) و در دمای 4°C قرار داده شد تا سیلیبیین انکپسوله نشده حذف گردد. سپس نیوزومهای دارای سیلیبیین با نسبت‌های حجمی $1:10$ و $1:20$ با ایزوپروپیل مخلوط کرده تا دیواره لیپیدی اطراف سیلیبیین شکسته شود و دارو آزاد گردد. در مرحله بعد میزان جذب سیلیبیین انکپسوله شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ماکزیم سیلیبیین (240 nm) محاسبه شد. در پایان با استفاده از نمودار استاندارد سیلیبیین در ایزوپروپیل، و رابطه (۱)، درصد بارگذاری سیلیبیین در نیوزومهای دارای سیلیبیین محاسبه گردید (۱۴، ۱۳).

رابطه ۱:

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

بررسی سنتیک رهایش دارو از سامانه‌ی نیوزومی حاوی سیلیبیین: به منظور شبیه سازی رهایش دارو از حامل در محیط درون تنی، از PBS و دمای 37°C استفاده شد، تا بتوان شرایط مشابه درون تنی را برقرار ساخت. در مرحله‌ی نخست 1 mL از محلول نیوزومی حاوی سیلیبیین درون کیسه دیالیز قرار گرفت. در مرحله‌ی دوم کیسه دیالیز درون یک محیط ایزوله (فالکون استریل و بسته) با تنظیمات یاد شده قرار داده شد و استیرر گردید. در مرحله‌ی سوم از محیط اطراف کیسه دیالیز در زمان‌های مشخص صورت نمونه‌برداری شد. در پایان نیز با بهره‌گیری از معادله کالیبراسیون سیلیبیین در بافر PBS نسبت به محاسبه غلظت‌های آزاد شده دارو در دمای 37°C و با $\text{pH} = 5/4$ در زمان‌های مختلف و رسم نمودار آن اقدام گردید (۱۴).

تعیین اندازه نانو ذرات و پتانسیل زتا: پتانسیل زتای (Zeta-Potential) فرمولاسیون نیوزومی و سایز آن، با استفاده از دستگاه زتا سایزر (ساخت شرکت مالورن، انگلستان) مدل

توسط دستگاه الیزا ریدر ثبت و در نهایت با توجه به رابطه‌ی زیر درصد زنده‌مانی سلولها محاسبه شد.
رابطه (۲):

$$\frac{\text{میانگین جذب نوری در محیط کشت-میانگین جذب نوری در گروه آزمون}}{\text{میانگین جذب نوری در محیط کشت-میانگین جذب نوری در گروه کنترل}} \times 100$$

نتایج

میزان بارگذاری سیلیبیین، انتخاب فرمول نهایی و بررسی الگوی رهایش دارو از فرمول نهایی: راندمان انکپسولاسیون برای هریک از فرمولاسیون‌ها با توجه به نمودار کالیبراسیون سیلیبیین در ایزوپروپیل (تصویر ۲-ا) و همچنین حداکثر رهایش دارو از نانونیوزومهای حاوی سیلیبیین در شرایط شبه سلول سرطانی و با استناد به نمودار کالیبراسیون سیلیبیین در PBS (تصویر ۲-ب) محاسبه گردید و نتایج حاصل در جدول ۲ نشان داده شده است.

طور جداگانه با غلظت 10^4 در هرچاهک در پلیت ۹۶ تایی به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس، غلظتهای ۱۰۰ و ۱۰۰۰ و ۵ میکروگرم بر میلی لیتر از نیوزوم بدون دارو تهیه و سلولها به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت با آنها تیمار گردیدند تا میزان سمیت نیوزومهای فاقد دارو بررسی گردد. همچنین غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ از سیلیبیین و $100 \mu\text{g/ml}$ نانونیوزومهای حاوی سیلیبیین تهیه و سلول های موجود در پلیت ۹۶ خانه برای زمان های ۲۴، ۴۸ ساعت با غلظت های ذکر شده تیمار گردیدند. پس از گذشت زمان تیمارهای مورد نظر، ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر چاک اضافه شد و به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از آن مایع رویی خارج شد و به‌منظور حل شدن کریستال‌های فورمازون ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید. جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از

جدول ۲. حداکثر رهایش داروی سیلیبیین طی ۴۸ ساعت و درصد بارگذاری دارو در فرمولاسیونهای نیوزومی مختلف

نام فرمولاسیون	درصد بارگذاری دارو	حداکثر رهایش ۴۸ ساعته
A-1	$53/03 \pm 2$	۵۸/۷۲
A-2	$86/04 \pm 0/01$	۳۴/۷۲
A-3	۹۳/۷۲	۶۷/۶۹
B-1	$22/01 \pm 1$	۵۱/۷
B-2	$83/71 \pm 0/09$	۶۷/۱۵
B-3	$82/88 \pm 2$	۷۷/۳۵
C-1	$66/01 \pm 1$	۷۵/۷۲
C-2	$92/87 \pm 5$	۸۹/۰۳
C-3	$67/59 \pm 1/4$	۵۸/۴۲

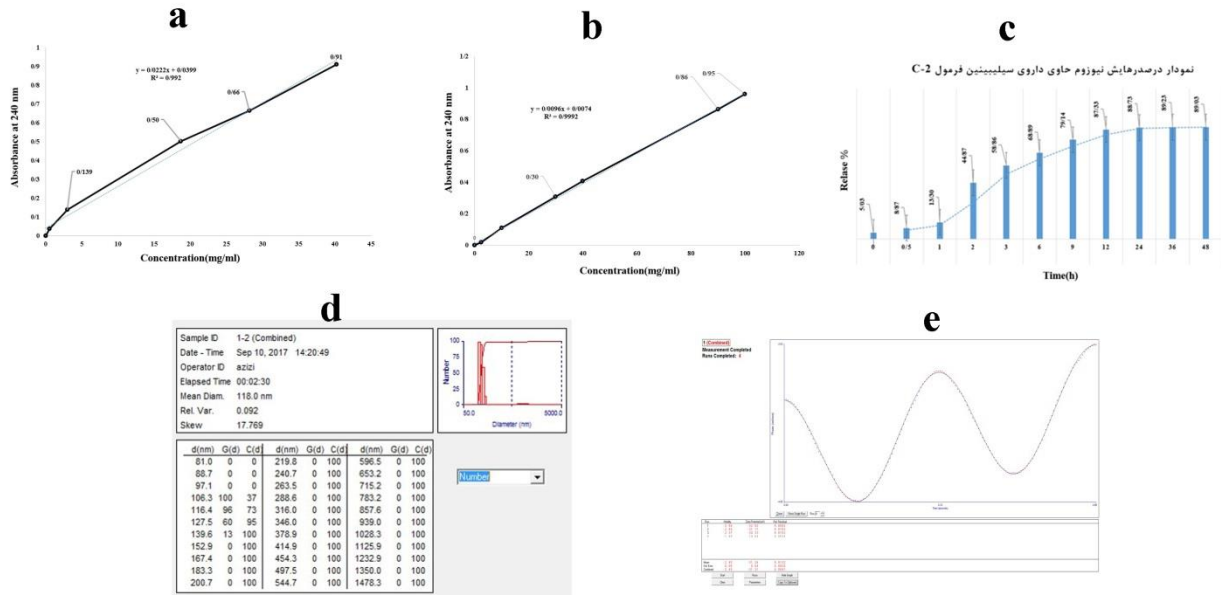
نانونیوزومهای حاصل از فرمولاسیون C-2 رسم گردید (تصویر ۲-ج).

بررسی الگوی رهایش دارو از نیوزومهای حاصل از فرمولاسیون C-2 نشان می‌دهد که، در ۱۲ ساعت اولیه به دلیل اختلاف غلظت زیاد دارو میان نانونیوزوم و محیط (بافر)، رهایش دارو با سرعت زیادی انجام میگیرد و در ادامه با کاهش این غلظت شیب رهایش دارو کاهش می‌یابد.

بنابراین با توجه به درصد بارگذاری دارو در نانونیوزومها و همچنین میزان رهایش دارو از نانونیوزومها طی ۴۸ ساعت، فرمولاسیون C-2 به دلیل برخورداری از درصد بارگذاری بالاتر ($92/87 \pm 5$ درصد) و نیز حداکثر رهایش دارو طی ۴۸ ساعت به میزان $89/03$ درصد، بعنوان فرمولاسیون منتخب برگزیده شده تا سایر بررسیهای فیزیکوشیمیایی بر روی آن انجام گیرد. همچنین با استناد به نمودار کالیبراسیون سیلیبیین (تصویر ۲-ب) نمودار رهایش داروی سیلیبیین از

۱۱۸ (تصویر ۲-d) و حاوی بار سطحی (پتانسیل زتا) $\pm 0.9/mV$
 ۲۱/۳۳- می باشد (تصویر ۲-e).

انداره و پتانسیل زتا فرمولاسیون منتخب (C-2): با استناد به نتایج حاصل از آنالیز نانونیوزوم حاوی دارو توسط دستگاه DLS، نانونیوزوم حاصل از فرمولاسیون C-2 دارای اندازه



تصویر ۲. (a) نمودار استاندارد سیلیبیین در ایزوپروپیل، (b) نمودار استاندارد سیلیبیین در PBS، (c) نمودار ره‌ایش داروی سیلیبیین در شرایط شبه سلول سرطانی (C ۴۲°) از فرمولاسیون C-2، (d) اندازه ذرات سامانه نیوزومی حاوی سیلیبیین، (e) پتانسیل زتا سامانه نیوزومی حاوی سیلیبیین

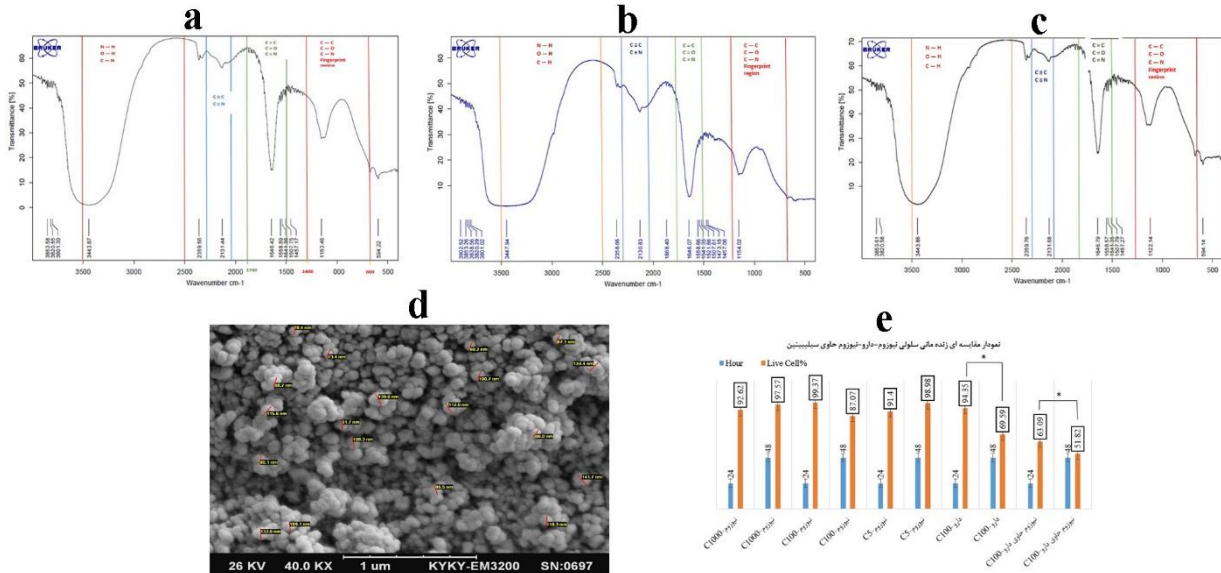
نداشته است و پیک جدیدی مبنی بر برهمکنش دارو و نانوسامانه در طیف نانوسامانه حاوی دارو مشاهده نمی‌شود. بررسی تصویر میکروسکوپ الکترونی از نیوزومهای حاوی دارو در فرمولاسیون C-2: تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان می‌دهد که نانونیوزومهای حاوی دارو از شکل کروی و همگنی برخوردار هستند. همچنین این تصویر نشان می‌دهد که چسبیدگی میان ذرات مشاهده نمی‌شود (تصویر ۳-d).

بررسی سمیت سلولی نانوسامانه بهینه دارای سیلیبیین: بررسی نتایج حاصل از تست سمیت بر ردهی MCF-7 نشان می‌دهد که، با توجه به بقای بیش از ۸۵ درصد سلولها در اثر تیمار با نانونیوزوم فاقد دارو در تمامی غلظت‌ها (۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، این نانو سامانه فاقد دارو از سمیت پایین برخوردار می‌باشد. همچنین مقایسه سمیت داروی آزاد سیلیبیین و داروی سیلیبیین نیوزومه شده بر ردهی سلولی MCF-7، نشان می‌دهد که در

نتایج بررسی طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR): در طیف FT-IR داروی سیلیبیین پیکهای شاخصی همچون 1646 cm^{-1} ، 1547 cm^{-1} ، 1380 cm^{-1} ، 1154 cm^{-1} ، 1074 cm^{-1} ، 1034 cm^{-1} ، 715 cm^{-1} ، 600 cm^{-1} ، 500 cm^{-1} ، 470 cm^{-1} ، 430 cm^{-1} ، 390 cm^{-1} ، 350 cm^{-1} ، 310 cm^{-1} ، 270 cm^{-1} ، 230 cm^{-1} ، 190 cm^{-1} ، 150 cm^{-1} ، 110 cm^{-1} ، 70 cm^{-1} ، 30 cm^{-1} ، 15 cm^{-1} ، 10 cm^{-1} ، 5 cm^{-1} ، 0 cm^{-1} ، -5 cm^{-1} ، -10 cm^{-1} ، -15 cm^{-1} ، -20 cm^{-1} ، -25 cm^{-1} ، -30 cm^{-1} ، -35 cm^{-1} ، -40 cm^{-1} ، -45 cm^{-1} ، -50 cm^{-1} ، -55 cm^{-1} ، -60 cm^{-1} ، -65 cm^{-1} ، -70 cm^{-1} ، -75 cm^{-1} ، -80 cm^{-1} ، -85 cm^{-1} ، -90 cm^{-1} ، -95 cm^{-1} ، -100 cm^{-1} ، -105 cm^{-1} ، -110 cm^{-1} ، -115 cm^{-1} ، -120 cm^{-1} ، -125 cm^{-1} ، -130 cm^{-1} ، -135 cm^{-1} ، -140 cm^{-1} ، -145 cm^{-1} ، -150 cm^{-1} ، -155 cm^{-1} ، -160 cm^{-1} ، -165 cm^{-1} ، -170 cm^{-1} ، -175 cm^{-1} ، -180 cm^{-1} ، -185 cm^{-1} ، -190 cm^{-1} ، -195 cm^{-1} ، -200 cm^{-1} ، -205 cm^{-1} ، -210 cm^{-1} ، -215 cm^{-1} ، -220 cm^{-1} ، -225 cm^{-1} ، -230 cm^{-1} ، -235 cm^{-1} ، -240 cm^{-1} ، -245 cm^{-1} ، -250 cm^{-1} ، -255 cm^{-1} ، -260 cm^{-1} ، -265 cm^{-1} ، -270 cm^{-1} ، -275 cm^{-1} ، -280 cm^{-1} ، -285 cm^{-1} ، -290 cm^{-1} ، -295 cm^{-1} ، -300 cm^{-1} ، -305 cm^{-1} ، -310 cm^{-1} ، -315 cm^{-1} ، -320 cm^{-1} ، -325 cm^{-1} ، -330 cm^{-1} ، -335 cm^{-1} ، -340 cm^{-1} ، -345 cm^{-1} ، -350 cm^{-1} ، -355 cm^{-1} ، -360 cm^{-1} ، -365 cm^{-1} ، -370 cm^{-1} ، -375 cm^{-1} ، -380 cm^{-1} ، -385 cm^{-1} ، -390 cm^{-1} ، -395 cm^{-1} ، -400 cm^{-1} ، -405 cm^{-1} ، -410 cm^{-1} ، -415 cm^{-1} ، -420 cm^{-1} ، -425 cm^{-1} ، -430 cm^{-1} ، -435 cm^{-1} ، -440 cm^{-1} ، -445 cm^{-1} ، -450 cm^{-1} ، -455 cm^{-1} ، -460 cm^{-1} ، -465 cm^{-1} ، -470 cm^{-1} ، -475 cm^{-1} ، -480 cm^{-1} ، -485 cm^{-1} ، -490 cm^{-1} ، -495 cm^{-1} ، -500 cm^{-1} ، -505 cm^{-1} ، -510 cm^{-1} ، -515 cm^{-1} ، -520 cm^{-1} ، -525 cm^{-1} ، -530 cm^{-1} ، -535 cm^{-1} ، -540 cm^{-1} ، -545 cm^{-1} ، -550 cm^{-1} ، -555 cm^{-1} ، -560 cm^{-1} ، -565 cm^{-1} ، -570 cm^{-1} ، -575 cm^{-1} ، -580 cm^{-1} ، -585 cm^{-1} ، -590 cm^{-1} ، -595 cm^{-1} ، -600 cm^{-1} ، -605 cm^{-1} ، -610 cm^{-1} ، -615 cm^{-1} ، -620 cm^{-1} ، -625 cm^{-1} ، -630 cm^{-1} ، -635 cm^{-1} ، -640 cm^{-1} ، -645 cm^{-1} ، -650 cm^{-1} ، -655 cm^{-1} ، -660 cm^{-1} ، -665 cm^{-1} ، -670 cm^{-1} ، -675 cm^{-1} ، -680 cm^{-1} ، -685 cm^{-1} ، -690 cm^{-1} ، -695 cm^{-1} ، -700 cm^{-1} ، -705 cm^{-1} ، -710 cm^{-1} ، -715 cm^{-1} ، -720 cm^{-1} ، -725 cm^{-1} ، -730 cm^{-1} ، -735 cm^{-1} ، -740 cm^{-1} ، -745 cm^{-1} ، -750 cm^{-1} ، -755 cm^{-1} ، -760 cm^{-1} ، -765 cm^{-1} ، -770 cm^{-1} ، -775 cm^{-1} ، -780 cm^{-1} ، -785 cm^{-1} ، -790 cm^{-1} ، -795 cm^{-1} ، -800 cm^{-1} ، -805 cm^{-1} ، -810 cm^{-1} ، -815 cm^{-1} ، -820 cm^{-1} ، -825 cm^{-1} ، -830 cm^{-1} ، -835 cm^{-1} ، -840 cm^{-1} ، -845 cm^{-1} ، -850 cm^{-1} ، -855 cm^{-1} ، -860 cm^{-1} ، -865 cm^{-1} ، -870 cm^{-1} ، -875 cm^{-1} ، -880 cm^{-1} ، -885 cm^{-1} ، -890 cm^{-1} ، -895 cm^{-1} ، -900 cm^{-1} ، -905 cm^{-1} ، -910 cm^{-1} ، -915 cm^{-1} ، -920 cm^{-1} ، -925 cm^{-1} ، -930 cm^{-1} ، -935 cm^{-1} ، -940 cm^{-1} ، -945 cm^{-1} ، -950 cm^{-1} ، -955 cm^{-1} ، -960 cm^{-1} ، -965 cm^{-1} ، -970 cm^{-1} ، -975 cm^{-1} ، -980 cm^{-1} ، -985 cm^{-1} ، -990 cm^{-1} ، -995 cm^{-1} ، -1000 cm^{-1} ، -1005 cm^{-1} ، -1010 cm^{-1} ، -1015 cm^{-1} ، -1020 cm^{-1} ، -1025 cm^{-1} ، -1030 cm^{-1} ، -1035 cm^{-1} ، -1040 cm^{-1} ، -1045 cm^{-1} ، -1050 cm^{-1} ، -1055 cm^{-1} ، -1060 cm^{-1} ، -1065 cm^{-1} ، -1070 cm^{-1} ، -1075 cm^{-1} ، -1080 cm^{-1} ، -1085 cm^{-1} ، -1090 cm^{-1} ، -1095 cm^{-1} ، -1100 cm^{-1} ، -1105 cm^{-1} ، -1110 cm^{-1} ، -1115 cm^{-1} ، -1120 cm^{-1} ، -1125 cm^{-1} ، -1130 cm^{-1} ، -1135 cm^{-1} ، -1140 cm^{-1} ، -1145 cm^{-1} ، -1150 cm^{-1} ، -1155 cm^{-1} ، -1160 cm^{-1} ، -1165 cm^{-1} ، -1170 cm^{-1} ، -1175 cm^{-1} ، -1180 cm^{-1} ، -1185 cm^{-1} ، -1190 cm^{-1} ، -1195 cm^{-1} ، -1200 cm^{-1} ، -1205 cm^{-1} ، -1210 cm^{-1} ، -1215 cm^{-1} ، -1220 cm^{-1} ، -1225 cm^{-1} ، -1230 cm^{-1} ، -1235 cm^{-1} ، -1240 cm^{-1} ، -1245 cm^{-1} ، -1250 cm^{-1} ، -1255 cm^{-1} ، -1260 cm^{-1} ، -1265 cm^{-1} ، -1270 cm^{-1} ، -1275 cm^{-1} ، -1280 cm^{-1} ، -1285 cm^{-1} ، -1290 cm^{-1} ، -1295 cm^{-1} ، -1300 cm^{-1} ، -1305 cm^{-1} ، -1310 cm^{-1} ، -1315 cm^{-1} ، -1320 cm^{-1} ، -1325 cm^{-1} ، -1330 cm^{-1} ، -1335 cm^{-1} ، -1340 cm^{-1} ، -1345 cm^{-1} ، -1350 cm^{-1} ، -1355 cm^{-1} ، -1360 cm^{-1} ، -1365 cm^{-1} ، -1370 cm^{-1} ، -1375 cm^{-1} ، -1380 cm^{-1} ، -1385 cm^{-1} ، -1390 cm^{-1} ، -1395 cm^{-1} ، -1400 cm^{-1} ، -1405 cm^{-1} ، -1410 cm^{-1} ، -1415 cm^{-1} ، -1420 cm^{-1} ، -1425 cm^{-1} ، -1430 cm^{-1} ، -1435 cm^{-1} ، -1440 cm^{-1} ، -1445 cm^{-1} ، -1450 cm^{-1} ، -1455 cm^{-1} ، -1460 cm^{-1} ، -1465 cm^{-1} ، -1470 cm^{-1} ، -1475 cm^{-1} ، -1480 cm^{-1} ، -1485 cm^{-1} ، -1490 cm^{-1} ، -1495 cm^{-1} ، -1500 cm^{-1} ، -1505 cm^{-1} ، -1510 cm^{-1} ، -1515 cm^{-1} ، -1520 cm^{-1} ، -1525 cm^{-1} ، -1530 cm^{-1} ، -1535 cm^{-1} ، -1540 cm^{-1} ، -1545 cm^{-1} ، -1550 cm^{-1} ، -1555 cm^{-1} ، -1560 cm^{-1} ، -1565 cm^{-1} ، -1570 cm^{-1} ، -1575 cm^{-1} ، -1580 cm^{-1} ، -1585 cm^{-1} ، -1590 cm^{-1} ، -1595 cm^{-1} ، -1600 cm^{-1} ، -1605 cm^{-1} ، -1610 cm^{-1} ، -1615 cm^{-1} ، -1620 cm^{-1} ، -1625 cm^{-1} ، -1630 cm^{-1} ، -1635 cm^{-1} ، -1640 cm^{-1} ، -1645 cm^{-1} ، -1650 cm^{-1} ، -1655 cm^{-1} ، -1660 cm^{-1} ، -1665 cm^{-1} ، -1670 cm^{-1} ، -1675 cm^{-1} ، -1680 cm^{-1} ، -1685 cm^{-1} ، -1690 cm^{-1} ، -1695 cm^{-1} ، -1700 cm^{-1} ، -1705 cm^{-1} ، -1710 cm^{-1} ، -1715 cm^{-1} ، -1720 cm^{-1} ، -1725 cm^{-1} ، -1730 cm^{-1} ، -1735 cm^{-1} ، -1740 cm^{-1} ، -1745 cm^{-1} ، -1750 cm^{-1} ، -1755 cm^{-1} ، -1760 cm^{-1} ، -1765 cm^{-1} ، -1770 cm^{-1} ، -1775 cm^{-1} ، -1780 cm^{-1} ، -1785 cm^{-1} ، -1790 cm^{-1} ، -1795 cm^{-1} ، -1800 cm^{-1} ، -1805 cm^{-1} ، -1810 cm^{-1} ، -1815 cm^{-1} ، -1820 cm^{-1} ، -1825 cm^{-1} ، -1830 cm^{-1} ، -1835 cm^{-1} ، -1840 cm^{-1} ، -1845 cm^{-1} ، -1850 cm^{-1} ، -1855 cm^{-1} ، -1860 cm^{-1} ، -1865 cm^{-1} ، -1870 cm^{-1} ، -1875 cm^{-1} ، -1880 cm^{-1} ، -1885 cm^{-1} ، -1890 cm^{-1} ، -1895 cm^{-1} ، -1900 cm^{-1} ، -1905 cm^{-1} ، -1910 cm^{-1} ، -1915 cm^{-1} ، -1920 cm^{-1} ، -1925 cm^{-1} ، -1930 cm^{-1} ، -1935 cm^{-1} ، -1940 cm^{-1} ، -1945 cm^{-1} ، -1950 cm^{-1} ، -1955 cm^{-1} ، -1960 cm^{-1} ، -1965 cm^{-1} ، -1970 cm^{-1} ، -1975 cm^{-1} ، -1980 cm^{-1} ، -1985 cm^{-1} ، -1990 cm^{-1} ، -1995 cm^{-1} ، -2000 cm^{-1} ، -2005 cm^{-1} ، -2010 cm^{-1} ، -2015 cm^{-1} ، -2020 cm^{-1} ، -2025 cm^{-1} ، -2030 cm^{-1} ، -2035 cm^{-1} ، -2040 cm^{-1} ، -2045 cm^{-1} ، -2050 cm^{-1} ، -2055 cm^{-1} ، -2060 cm^{-1} ، -2065 cm^{-1} ، -2070 cm^{-1} ، -2075 cm^{-1} ، -2080 cm^{-1} ، -2085 cm^{-1} ، -2090 cm^{-1} ، -2095 cm^{-1} ، -2100 cm^{-1} ، -2105 cm^{-1} ، -2110 cm^{-1} ، -2115 cm^{-1} ، -2120 cm^{-1} ، -2125 cm^{-1} ، -2130 cm^{-1} ، -2135 cm^{-1} ، -2140 cm^{-1} ، -2145 cm^{-1} ، -2150 cm^{-1} ، -2155 cm^{-1} ، -2160 cm^{-1} ، -2165 cm^{-1} ، -2170 cm^{-1} ، -2175 cm^{-1} ، -2180 cm^{-1} ، -2185 cm^{-1} ، -2190 cm^{-1} ، -2195 cm^{-1} ، -2200 cm^{-1} ، -2205 cm^{-1} ، -2210 cm^{-1} ، -2215 cm^{-1} ، -2220 cm^{-1} ، -2225 cm^{-1} ، -2230 cm^{-1} ، -2235 cm^{-1} ، -2240 cm^{-1} ، -2245 cm^{-1} ، -2250 cm^{-1} ، -2255 cm^{-1} ، -2260 cm^{-1} ، -2265 cm^{-1} ، -2270 cm^{-1} ، -2275 cm^{-1} ، -2280 cm^{-1} ، -2285 cm^{-1} ، -2290 cm^{-1} ، -2295 cm^{-1} ، -2300 cm^{-1} ، -2305 cm^{-1} ، -2310 cm^{-1} ، -2315 cm^{-1} ، -2320 cm^{-1} ، -2325 cm^{-1} ، -2330 cm^{-1} ، -2335 cm^{-1} ، -2340 cm^{-1} ، -2345 cm^{-1} ، -2350 cm^{-1} ، -2355 cm^{-1} ، -2360 cm^{-1} ، -2365 cm^{-1} ، -2370 cm^{-1} ، -2375 cm^{-1} ، -2380 cm^{-1} ، -2385 cm^{-1} ، -2390 cm^{-1} ، -2395 cm^{-1} ، -2400 cm^{-1} ، -2405 cm^{-1} ، -2410 cm^{-1} ، -2415 cm^{-1} ، -2420 cm^{-1} ، -2425 cm^{-1} ، -2430 cm^{-1} ، -2435 cm^{-1} ، -2440 cm^{-1} ، -2445 cm^{-1} ، -2450 cm^{-1} ، -2455 cm^{-1} ، -2460 cm^{-1} ، -2465 cm^{-1} ، -2470 cm^{-1} ، -2475 cm^{-1} ، -2480 cm^{-1} ، -2485 cm^{-1} ، -2490 cm^{-1} ، -2495 cm^{-1} ، -2500 cm^{-1} ، -2505 cm^{-1} ، -2510 cm^{-1} ، -2515 cm^{-1} ، -2520 cm^{-1} ، -2525 cm^{-1} ، -2530 cm^{-1} ، -2535 cm^{-1} ، -2540 cm^{-1} ، -2545 cm^{-1} ، -2550 cm^{-1} ، -2555 cm^{-1} ، -2560 cm^{-1} ، -2565 cm^{-1} ، -2570 cm^{-1} ، -2575 cm^{-1} ، -2580 cm^{-1} ، -2585 cm^{-1} ، -2590 cm^{-1} ، -2595 cm^{-1} ، -2600 cm^{-1} ، -2605 cm^{-1} ، -2610 cm^{-1} ، -2615 cm^{-1} ، -2620 cm^{-1} ، -2625 cm^{-1} ، -2630 cm^{-1} ، -2635 cm^{-1} ، -2640 cm^{-1} ، -2645 cm^{-1} ، -2650 cm^{-1} ، -2655 cm^{-1} ، -2660 cm^{-1} ، -2665 cm^{-1} ، -2670 cm^{-1} ، -2675 cm^{-1} ، -2680 cm^{-1} ، -2685 cm^{-1} ، -2690 cm^{-1} ، -2695 cm^{-1} ، -2700 cm^{-1} ، -2705 cm^{-1} ، -2710 cm^{-1} ، -2715 cm^{-1} ، -2720 cm^{-1} ، -2725 cm^{-1} ، -2730 cm^{-1} ، -2735 cm^{-1} ، -2740 cm^{-1} ، -2745 cm^{-1} ، -2750 cm^{-1} ، -2755 cm^{-1} ، -2760 cm^{-1} ، -2765 cm^{-1} ، -2770 cm^{-1} ، -2775 cm^{-1} ، -2780 cm^{-1} ،

داروی انکپسوله شده نشان می‌دهد که سمیت دارو آزاد و سمیت نانونیوزوم حاوی دارو وابسته به زمان بوده و با افزایش زمان تیمار از ۲۴ ساعت به ۴۸ ساعت، سمیت بیشتری را ایجاد نموده است (تصویر ۳-ع).

غلظت‌های مشابه (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از دارو و نانونیوزوم حاوی دارو، سمیت سیلیبیین انکپسوله شده در مقایسه با داروی آزاد، در زمانهای ۲۴ و ۴۸ ساعت بیشتر است ($P < 0.05$). از طرف دیگر مقایسه میزان سمیت داروی آزاد و



تصویر ۳. (a) طیف FT-IR دارو سیلیبیین، (b) طیف FT-IR نانونیوزوم فاقد دارو سیلیبیین (c)، طیف FT-IR نانونیوزوم حاوی دارو سیلیبیین، (d) تصویر SEM از نانونیوزومهای حاوی دارو، (e) نمودار میزان سمیت سیلیبیین انکپسوله شده و سیلیبیین آزاد بر رده MCF-7 (علامت * نشان دهنده تفاوت‌های معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$))

سمیت بیشتر داروی لیپوزوم نسبت به شکل آزاد است (۱۶). علوی و همکاران (۲۰۱۳) نیز، اثر گذارای هیدروکسی اوره‌ی لیپوزوم را بر رده‌ی سلولی سرطان سینه ارزیابی نمودند و نشان دادند که سمیت داروی لیپوزوم نسبت به داروی آزاد بیشتر است (۱۷). علاوه بر این علوی و همکاران (۲۰۱۴)، نانولیپوزومهای پگیله‌ی محتوی هیدروکسی اوره به منظور اثرگذاری بر رده‌ی سلولی MCF-7 تهیه کرده و گزارش نمودند که اثرگذاری داروی لیپوزوم نسبت به داروی آزاد بر رده سلولی MCF-7 به مراتب بیشتر است (۱۸). پژوهشهای ملکپور و همکاران (۱۶) و علوی و همکاران (۱۷) همانند پژوهش حاضر نشان میدهد که استفاده از نانوحاملهای لیپیدی برای رسانش داروهای ضد سرطان، باعث افزایش اثرات ضد سرطانی این داروها می‌شود. اوچی اردبیلی و همکاران (۲۰۱۵) نانوذرات لیپوزومی حاوی سیلیبیین با اندازه ذرات ۶/۳ نانومتر، پتانسیل زتای ۲۳/۲۵- و

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، فرمولاسیونی از نانونیوزومهای حاوی دارو سیلیبیین پیشنهاد شد که ضمن برخورداری از بار سطحی منفی، انکپسولاسیون ۹۵/۵۸٪ و اندازه‌ی ۱۱۸ nm دارای رهایش آهسته در شرایط شبه سلول سرطانی است به گونه‌ای که حداکثر رهایش دارو برای این نانوسامانه‌ی لیپیدی در مدت زمان ۴۸ ساعت در شرایط سلول سرطانی ۸۹/۰۳٪ می‌باشد. همچنین بررسی سمیت سلولی این نانوحامل حاوی دارو نشان می‌دهد که در غلظت‌های یکسان، میزان سمیت سیلیبیین نیوزوم در مقایسه با سیلیبیین آزاد بر روی رده‌ی سلولی MCF-7 سرطان پستان بیشتر است. تاکنون پژوهش‌های متعددی بر روی نانوحامل‌های لیپیدی صورت پذیرفته است، ملکپور و همکاران (۲۰۱۰)، سمیت داروی دوکسوروبیسین لیپوزوم و آزاد را بر رده‌ی سلولی MDA-MB-231 پستان ارزیابی نمودند که نتایج آن حاکی از

انکپسولاسیون ۹۲/۳٪ و رهایش ۸۰٪ به روش Solvent evaporation تهیه و گزارش نمودند که میزان سمیت آن بر ردهی سلولی A2780 تخمدان نسبت به داروی آزاد کورکومین بیشتر است (۲۳). همچنین شیرزاد و همکاران در سال ۲۰۱۷، اثر نانولیپوزومهای پگیله‌ی حاوی سیس پلاتین را بر روی ردهی سلولی A2780CP تخمدان ارزیابی نمودند که گزارش نمودند که انکپسولاسیون دارو باعث افزایش کارایی آن بر سلولهای تخمدان می‌شود (۲۴). نتایج پژوهش های Kanaani و شیرزاد همانند پژوهش حاضر تاییدی بر افزایش سمیت داروهای ضد سرطان نیوزومه شده نسبت به داروهای آزاد (نیوزومه نشده) بر سلولهای سرطانی است.

نادری‌نژاد و همکاران (۲۰۱۷)، نانو نیوزومهای محتوی کورکومین به منظور اثر گذاری بر سرطان استخوان تهیه که دارای اندازه ذرات ۲۴۲ نانومتر، پتانسیل زتا ۲۸- میلی ولت و درصد بارگذاری ۹۵/۲٪ بودند. همچنین این پژوهش نشان داد که میزان سمیت داروی کورکومین نیوزومه نسبت به حالت آزاد بر رده سلولی MG-63 بیشتر است (۲۵).

حقیرالسادات و همکاران (۲۰۱۷)، فرمولاسیون جدیدی برای تهیه نانولیپوزومهای حاوی دوکسوروبیسین پیشنهاد نمودند که سایز متوسط و زیگول‌ها، بازده درون‌گیری، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتای فرمول پیشنهاد شده به ترتیب ۶۱/۹۲٪، ۸۲/۸، ۰/۱۴ و ۲۳- میلی ولت بودند (۲۶). Castoldi و همکاران (۲۰۱۷)، لیپوزومهای حاوی کلسیفیدول تهیه نمودند که دارای راندمان انکپسولاسیون ۲۳ درصد، شاخص پراکندگی ۰/۱، پتانسیل زتا ۸- میلی ولت و اندازه ذرات زیر ۲۰۰ نانومتر بوده است. همچنین این پژوهش نشان می‌دهد که کلسیفیدول انکپسوله شده باعث کاهش بقای عفونت باکتریایی در برونشهای انسانی می‌شود (۲۷).

حقیرالسادات و همکاران (۲۰۱۸)، اثر گذاری نانولیپوزومهای دارای دوکسوروبیسین با شارژهای سطحی متفاوت را بر روی ردهی سلولی سرطان استخوان بررسی نمودند که نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که میزان سمیت داروی دوکسوروبیسین

میزان بارگذاری دارو ۲۴/۳۷٪ را تهیه نمودند. در این پژوهش ضمن تایید آهسته رهش بودن نانولیپوزوم‌های حاوی سیلیبیین، گزارش شده است که حداکثر رهایش دارو از این نانو سامانه طی ۷۵ ساعت ۲۴/۸۷٪ می‌باشد (۱۹). استفاده از نانو ذره نیوزومی و درصد بارگذاری بالاتر دارو در پژوهش حاضر از جمله مزایای پژوهش حاضر نسبت به پژوهش اوچی اردبیلی و همکاران است.

Shah و همکاران (۲۰۱۶)، فرمولاسیونهای مختلفی از نانولیپوزومهای حاوی داروی ناپروکسن را تهیه و گزارش نمودند که اندازه، حداکثر بارگذاری دارو و رهایش دارو طی ۱۲ ساعت در این نانو سامانه با توجه به فرمولاسیونهای مختلف به ترتیب بین ۲۸۱ تا ۴۱۴ نانومتر، ۶۰/۳۶ تا ۷۱/۹۸٪ و ۶۵/۹۱ تا ۷۵/۲۴٪ متغیر بوده است (۲۰). بررسی الگوی رهایش طی ۴۸ ساعت، اندازه ذرات کوچکتر و میزان بارگذاری بیشتر دارو، از جمله مزایای پژوهش حاضر نسبت به پژوهش Shah و همکاران است.

Ying و همکاران (۲۰۱۶)، نانو نیوزومهای حاوی کورکومین با درصد بارگذاری ۹۲/۳٪ تهیه نمودند و سمیت آن را بر رده سلولی سرطان تخمدان ارزیابی نمودند. این پژوهش نشان می‌دهد که کورکومین نیوزومه در مقایسه با کورکومین آزاد از سمیت بالاتری برخوردار است (۲۱). پژوهش Ying و همکاران همانند پژوهش حاضر نشان می‌دهد که استفاده از نیوزوم جهت رسانش داروهای ضد سرطان باعث افزایش سمیت دارو نسبت به شکل آزاد دارو (نیوزومه نشده) بر سلولهای سرطانی می‌شود.

Naderinezhad و همکاران در سال ۲۰۱۷ نانولیپونیوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین تهیه و سمیت آن را بر رده‌های سلولی KG-1 مغز استخوان، Saos-2 استئوسارکوما و MG-63 استیوبلاست، سنجیده و گزارش نمودند که دوکسوروبیسین محبوس شده باعث کاهش بیشتر بقای سلولهای سرطانی نسبت به شکل آزاد این دارو می‌شود (۲۲). Kanaani و همکاران (۲۰۱۷)، نیوزومهای حاوی کورکومین را با درصد

بهرامی بنان (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، $۱۶۰/۳۷ \pm ۲/۶۵$ نانومتر، $۵۸/۱۱$ میلی ولت $۹۴/۱۸\%$ می‌باشد و میزان سمیت داروی انکپسوله نسبت به داروی آزاد بر رده KG-1 بیشتر بوده است (۳۱). نتایج پژوهش بهرامی بنان به دلیل تشابه در روش ساخت و نوع نانو ذره به نتایج پژوهش حاضر بسیار نزدیک بوده و همانند پژوهش حاضر موید این نکته است که انکپسوله کردن داروهای ضد سرطان باعث افزایش سمیت آنها بر رده‌های مختلف سلولهای سرطانی می‌شود.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر فرمولاسیونهای مختلفی از نانوحاملهای لیپیدی حاوی سیلیبیین طراحی و ساخته شد که سرانجام منتهی به فرمولی نهایی (C-2) با درصد بارگذاری بالا از این نانوسامانه‌ی حاوی سیلیبیین شد که با برخورداری ویژگیهای فیزیکوشیمیایی مناسب، رهایش کنترل شده‌ای در شرایط سلول سرطانی دارد و باعث افزایش سمیت سیلیبیین در حالت انکپسوله شده در مقایسه با حالت آزاد گردیده است. بنابراین با توجه به شواهد فوق، نانو سامانه‌های نیوزومی حاضر را میتوان احتمالاً به عنوان حاملی مناسب جهت رسانش داروی سیلیبیین به سلولهای سرطانی از جمله سرطان پستان پیشنهاد نمود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از تمامی کسانی که در اجرای پژوهش حاضر همکاری نمودند، تقدیر و تشکر نمایند.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

در حالت لیپوزومه نسبت به حالت آزاد بیشتر است. علاوه بر این این پژوهش گزارش می‌دهد که سمیت دارو در نانولیپوزومهای کاتیونی نسبت به آنیونی بیشتر است (۲۸). اگرچه پژوهش حقیرالسادات و همکاران از منظر نوع نانو ذره مورد استفاده و نوع داروی محبوس شده با پژوهش حاضر متفاوت است، ولی همانند پژوهش حاضر نشان میدهد که نانو ذرات لیپیدی حاملهای مناسبی جهت رسانش داروهای ضد سرطانی به رده‌های سلولهای سرطانی هستند.

مجدی زاده و همکاران (۲۰۱۸)، نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس نعناع فلفلی تهیه نمودند که وزیکول‌های لیپوزومی حاوی اسانس با اندازه $۱۳/۳۹ \pm ۲/۷$ نانومتر، $۶۱/۳۸ \pm ۲/۷$ میلی ولت راندمان انکپسولاسیون، پتانسیل زتا $۰/۷۴ \pm ۳۴/۵۴$ میلی ولت و شاخص پراکنندگی $۰/۰۱ \pm ۰/۳۲$ می‌باشد (۱۳). اندازه ذرات کوچکتر، درصد بارگذاری بیشتر و استفاده از نانوحامل نیوزومی، از جمله مزیت‌های پژوهش حاضر نسبت به پژوهش مجدی زاده و همکاران میباشد که به نظر میرسد تفاوت در نوع ماده بارگذاری در پژوهش مجدی زاده نسبت به پژوهش حاضر، دلیل اصلی تفاوت زیاد درصد انکپسولاسیون و اندازه ذرات باشد.

ساسانی و همکاران (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 $۱/۸۵ \pm ۹۸/۱۲$ درصد می‌باشد (۲۹). نتایج بدست آمده از پژوهش ساسانی و همکاران به دلیل تشابه در روش ساخت و استفاده از نانوحاملهای مشابه به نتایج پژوهش حاضر بسیار نزدیک بوده است. هرچند مثبت‌تر بودن بار سطحی وزیکولهای پژوهش ساسانی و همکاران، از مزیت‌های آن بر پژوهش حاضر می‌باشد. Tang و همکاران (۲۰۱۸)، لیپوزومهایی دارای گامبوجیک اسید تهیه نموده اند که ضمن برخورداری از فعالیت ضد توموری بالا نسبت به گامبوجیک اسید انکپسوله نشده، دارای راندمان انکپسولاسیون ۹۵ درصد و اندازه ذرات ۷۵ نانومتر بوده است (۳۰).

References

- Anand P, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, Sung B, & Aggarwal BB. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *pharm res.* 2008; 25(9): 2097–116.
- Clark WH. Tumour progression and the nature of cancer. *Br J Cancer.* 1991; 64(4): 631–44. 3.
- Dellaire G, Berman N J and Arceci J R. *Cancer Genomics: From Bench to Personalized Medicine*. Academic Press. 2014; 194-211.
- Salehi Z, Mohammaddoust S, Saedi H. The Genetic Association of SEP15 G1125A Polymorphism with breast. *jour guilan uni med sci.* 2017;26(101):1–7.
- Nelson NJ. Migrant studies aid the search for factors linked to breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(7):436-8.
- Das M, Mohanty C, Sahoo SK. Ligand-based targeted therapy for cancer tissue. *Expert Opin Drug Deliv.*6(3):285–304.
- Poste G, Kirsh R. Site-Specific (Targeted) drug delivery in cancer therapy. *natuer biotechnology.* 1983; 1:869-78
- Tinsley R. Harrison, Braunwald E. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc; 2008
- Pashaei-Asl F, Pashaiasl M. Anti-Cancer Effect of Silibinin on Epithelial Ovarian Cancer Cell Line and P21 Gene Expression. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2016; 16 (3) :300-308
- Alimoghaddam K, Ghavamzadeh A. Silibinin induces apoptosis and inhibits proliferation of estrogen receptor (ER)-negative breast carcinoma cells through suppression of nuclear factor kappa B activation. *Archives of Iranian medicine.* 2014 May 1;17(5):366. Pawar SD, Pawar RG, Kodag PP, Waghmare AS, Niosome: An Unique Drug Delivery System, *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*,3, 2012, 409-412.
- Pawar SD, Pawar RG, Kodag PP, Waghmare AS. Niosome: an unique drug delivery system. *International journal of biology, pharmacy and allied sciences.* 2012; 3: 409-412.
- Mujoriya RZ, Dhamande K, Bodla RB. Niosomal drug delivery system—a review. *Int J Appl Pharm.* 2011 May 28;3(3):7-10.
- Majdizadeh M, Rezaei Zarchi S, Movahedpour AA, Shahi Malmir H, 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 Shaeed Sdoughi Univ Med Sci Yazd.* 2018;25(10):853–64. [Persian]
- Haghirsadat BF, Amouabedini G, Naderinezhad S, Sheikhha MH, Malaei-balasi Z, Akbarzadeh 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]
- Moghassemi S, Hadjizadeh A. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: an illustrated review. *Journal of controlled release.* 2014 Jul 10;185:22-36.
- Malekpour B, Jalalinadoushan mohammad reza, Mansoori S, Hajihoseini R, Mirzaei M, Jamali D. Comparison of the Killing Effect of Free, Negative and Neutral Charged Liposomal Doxorubicin on Breast Cancer Cell Line. *Daneshvar Medicine.* 2010;17(85): 63–70. [Persian]
- Alavi seyed ebrahim, Koochi-moftakhar-esfahani M, Akbarzadeh A. Evaluating the effect of nanoliposomal hydroxyurea urea on the breast cancer cell line. *New Cellular & Molecular Biotechnology Journal.* 2013; 3(11): 63–7. [Persian]
- Alavi seyed ebrahim, Koochi-moftakhar-esfahani M, Akbarzadeh A. Cytotoxic activity of pegylated nanoliposomal hydroxyurea in MCF-7 cell line. *New Cellular & Molecular Biotechnology Journal.* 2014; 4(13): 33–6. [Persian]
- Ochi Ardebili M, Amoabediny G, Rezayat S, Akbarzadeh A, Ebrahimi B. Design and Preparation of Encapsulated Nano-Liposome Controlled Release including Silibinin Anti-Cancer Herbal Drug (Nano Phytosome). *JSSU.* 2015; 23 (3) :2000-2012. [Persian]
- Shah N, Gupta MK, Jain NK & Jain N. Characterization, optimization and niosome containing Naproxen. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research* 2016; 5(1): 1-6.
- Xu YQ, Chen WR, Tsosie JK, Xie X, Li P, Wan JB, He CW, Chen MW. Niosome encapsulation of curcumin. *Journal of Nanomaterials.* 2016 Mar 1;2016:15.

22. Naderinezhad S, Amouabedini G, Haghirsadat F. Co-delivery of hydrophilic and hydrophobic anticancer drugs using biocompatible pH-sensitive lipid-based nano-carriers for multidrug-resistant cancers. *RSC Adv.* 2017;7(1):30008–19
23. Kanaani L, Mazloumi Tabrizi M & Akbarzadeh Khiyavi A. Improvement the efficacy of cisplatin by Niosome Nanoparticles against human Breast cancer cell line BT-20: An in vitro study. *Asian Pacific Journal of Cancer Biology* 2017; 2(2): 25-6.
24. Shirzad M, Jamehbozorgi S, Aghabozorg H, Akbarzadeh A. Drug Delivery of Pegylated Nanoliposomal Cisplatin in Ovarian Cancer Cell Line A2780CP: in vitro Study. *New Cellular & Molecular Biotechnology Journal.* 2017; 7(25): 77–84. [Persian]
25. Naderinezhad S, Haghirsadat BF, Amouabedini G, Naderinezhad A, Esmaeili Z, Akbarzadeh 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. [Persian]
26. Haghirsadat F, Amoabediny G, Shekhha 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.
27. Castoldi A, Herr C, Niederstraßer J, Labouta HI, Melero A, Gordon S, Schneider-Daum N, Bals R, Lehr CM. Calcifediol-loaded liposomes for local treatment of pulmonary bacterial infections. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2017 Sep 1;118:62-7.
28. 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. *Daneshvar Med.* 2018;25(133):19–26. [Persian]
29. Sasani E, Shahi Malmir H, Daneshmand F, Majdzadeh M, Haghirsadat B F. A new study on synthesize and optimization of PEGylated LipoNiosomal nanocarriers containing curcumin for use in cancer chemotherapy . *JSSU.* 2018; 26 (6): 528-541. [Persian]
30. Tang WL, Tang WH, Szeitz A, Kulkarni J, Cullis P, Li SD. Systemic study of solvent-assisted active loading of gambogic acid into liposomes and its formulation optimization for improved delivery. *Biomaterials.* 2018 Jun 1;166:13-26.
31. Bahrami-Banan F, Shekhha M H, Ghasemi N, Majdzadeh M, Haghirsadat B F. Preparation and Study of Nano-Niosomes Containing Doxorubicin and Evaluation of its Toxicity on Acute Myeloblastic Leukemia Cell Line KG-1. *payavard.* 2018; 12 (4). [Persian]

Investigating the effect of lipid nanoparticles containing silibinin anti-cancer drug on the growth of breast cancer MCF-7 cell line

Arsalan Karimi-Moghddam¹, Narges Nikoonahad Lotfabadi^{1*}, Bibi Fatemeh Haghirsadat²,
Mohammad Majdizadeh³

1. Department of Biology, Sciences Faculty, Science and Arts University, Yazd, Iran
2. Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3. Department of Nano-Biotechnology, Nano-Biotech Foresight Company, Science & Technology Park of Yazd, Yazd, Iran

Corresponding author: nikounahad_1976@yahoo.com

Abstract

Background & Aim: Silibinin is a blend of flavonoids, which is extracted from *Marianum Silybum*, and its anti-cancer effects on breast cells have been studied. The aim of this study was to provide physiochemical evaluation of various formulations of the niosomal system containing silibinin, in order to achieve targeted formulation to better fight breast cancer cells.

Methods: Nano-carriers were synthesized using different molar ratios of structural elements such as Cholesterol, Polysorbates 20 and 60 and of the 9 synthetic formulations; the best formulation was selected based on the encapsulation efficiency. Then, the pattern of drug release in conditions similar to cancerous cells, the size of nano-carrier and surface charge were investigated. Furthermore, the interaction of drugs and nano-carriers was studied by investigating IR spectra and particle morphology using scanning electron microscopy. At the end, using the MTT method, niosomal silibinin toxicity was measured on the MCF-7 cell line.

Results: The final formulation containing silibinin, had 118nm size, $92.87 \pm 5\%$ encapsulation efficiency, -31.33 ± 0.9 mV zeta potential. The maximum release rate of the drug for this nano-carrier in cancerous cells within 48 hours was 89.03%. The results of MTT show that the amount of toxicity of encapsulated silibinins is higher than the non-capsulated silibinin on MCF-7 cell line.

Conclusion: The results of this study showed that the niosomal system, having the proper physiochemical properties, increases the toxic effect of silibinin on MCF-7 cell line. Therefore, it can be a suitable carrier for drug delivery to cancer cells.

Keywords:

Niosome,
Silibinin,
Drug Carriers,
Anti-neoplastic Agents,
MCF-7 cells

©2018 Torbat Heydariyeh
University of Medical Sciences.
All rights reserved.

How to Cite this Article: Karimi-Moghddam A, Nikoonahad Lotfabadi N, Haghirsadat BF, Majdizadeh M. Investigating the effect of lipid nanoparticles containing silibinin anti-cancer drug on the growth of breast cancer MCF-7 cell line. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2018;6(4):1-12.