

## ساخت و بررسی نانونیوزومهای حاوی دوکسوروبیسین و ارزیابی سمیت آن بر رده‌ی سلولی لوسمی میلوبلاستی حاد KG-1

فاطمه بهرامی بنان<sup>۱</sup>، محمدحسن شیخبا<sup>۲</sup>، نسرین قاسمی<sup>۲</sup>، محمد مجدی زاده<sup>۳</sup>،

بی بی فاطمه حقیرالسادات<sup>۴</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** یکی از استراتژیهای موثر جهت هدفمند کردن شیمی درمانی در درمان سرطان، استفاده از نانوحاملهای لیپیدی است. در این مطالعه فرمولاسیون بهینه‌ی نیوزومی دارای دوکسوروبیسین جهت مبارزه‌ی بهتر با سلولهای سرطانی تهیه شده و مورد ارزیابیهای فیزیکوشیمیایی و سلولی قرار گرفته است.

**روش بررسی:** وزیکولهای نیوزومی با استفاده از فسفاتیدیل کولین (۲۰٪)، کلسترول (۲۲/۵٪)، Span۶۰ (۵۲/۵٪) و DSPE-PEG۲۰۰۰ (۵٪) و با روش فیلم نازک تهیه شدند. سپس دوکسوروبیسین درون نیوزومها بارگذاری شد. بررسی شاخصه‌های فیزیکوشیمیایی آنها با استفاده از دستگاه‌های زتا سایزر، SEM، FTIR انجام و میزان رهایش دارو در دمای ۳۷ °C و ۴۴ °C محاسبه گردید. در پایان میزان سمیت نانوسامانه‌ی حامل دارو به روی رده‌ی سلولی KG-1 سرطان مغز استخوان به روش MTT سنجیده شد.

**یافته‌ها:** نیوزومهای حاوی دارو دارای اندازه  $160.37 \pm 2.65$  nm، راندمان انکپسولاسیون ۹۴/۱۸ درصد، پتانسیل زتای  $58.11 \pm 1.24$  mV و شاخص پراکندگی  $0.234 \pm 0.02$  می‌باشد. رهایش دارو در این نانوحامل کنترل شده است و بررسی FTIR و SEM، نشان داد که دارو و نانوحامل برهمکنشی نداشته و ذرات آن ساختاری کروی داشته‌اند. همچنین بررسی‌های سلولی نشان داد که میزان سمیت دارو در شرایط کپسوله شده نسبت به شرایط غیرکپسوله بیشتر است.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این بررسی ضمن تایید ویژگیهای فیزیکوشیمیایی مناسب و آهسته رهش بودن سامانه، نشان می‌دهد که این نانوسامانه آبیونی باعث افزایش سمیت دارو برای رده‌ی سلولی KG-1 سرطان مغز استخوان می‌شود؛ بدین ترتیب این نانو حامل نیوزومی می‌تواند، حاملی مناسب جهت رسانش دارو به سلولهای سرطانی باشد.

**واژه‌های کلیدی:** نیوزوم، نئوپلاسم، دوکسوروبیسین، مغز استخوان، رده‌ی سلولی KG-1

دریافت مقاله: اسفند ۱۳۹۶

پذیرش مقاله: تیر ۱۳۹۷

\* نویسنده مسئول:

بی بی فاطمه حقیرالسادات؛

دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی

شهید صدوقی یزد

Email:

fhaighirosadat@gmail.com

۱ کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، گروه ژنتیک، مرکز پژوهشی بیوتکنولوژی پردیس بین الملل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، ایران

۲ دکتری ژنتیک، گروه ژنتیک، مرکز پژوهشی بیوتکنولوژی، پردیس بین الملل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، ایران

۳ کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست فناوری، شرکت ریز زیست فناوری، پارک علم و فناوری یزد، ایران

۴ دکتری نانو بیوتکنولوژی، گروه علوم و فنون نوین پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

## مقدمه

بیماری سرطان در حال حاضر یکی از مهمترین علل مرگ و میر در جهان می‌باشد، به گونه‌ای که این بیماری کشنده دومین علت مرگ و میر در جهان و سومین علت مرگ و میر در ایران است و هر ساله حدود ۱۴ میلیون نفر را در دنیا درگیر می‌کند (۱ و ۲) و تخمین زده شده که در سال ۲۰۲۰، حدود ۱۵ میلیون مورد جدید از ابتلا به سرطان و حدود ۱۰ میلیون مورد مرگ و میر ناشی از سرطان گزارش خواهد شد (۳). دلیل اکثر سرطانها نقص در تنظیم سلولی است که به دلیل آسیب ژنتیکی ناشی از مواد شیمیایی، هورمونها و گاهی اوقات ویروسها ایجاد می‌شود که در طی آن سلولهای نرمال دچار تغییر شده و به مکانسیمهای دقیق کنترل کننده چرخه‌ی سلولی پاسخ نمی‌دهند، بنابراین در اثر تکثیر کنترل نشده‌ی این سلولها توده‌ای سلولی به نام تومور ایجاد می‌شود (۴). عدم وابستگی به پیام‌رسانی فاکتورهای رشد طبیعی، گریز از پیامهای مهار کننده، گریز از آپوپتوز، نامحدود بودن همانندسازی، رگ‌زایی و متاستاز از ویژگیهای بارز سلولهای سرطانی است (۵).

مغز استخوان ماده‌ای نرم و اسفنجی است که دارای سلولهای مادر یا پایه بنام سلولهای بنیادی است که این سلولها وظیفه‌ی تولید سلولهای خونی را بر عهده دارند. بنابراین هر گونه نقص در سیستم تکثیر این سلولهای بنیادی می‌تواند منجر به بروز مشکلات خونی از جمله سرطان خون شود. سرطان خون نیز یکی از سه بدخیمی شایع در میان کودکان است که معمولا از مغز استخوان شروع و در اثر تکثیر ناقص گلبولهای سفید و پیش‌سازهای آن، تعداد زیادی گلبولهای سفید غیرطبیعی و تکامل نیافته در خون و مغز استخوان تولید می‌شود. سن، جنس، قرار گرفتن در معرض پرتوهای خطرناک، ژنتیک و غیره از جمله فاکتورهای موثر برای ابتلا به این بدخیمی کشنده است. شیمی درمانی و پیوند مغز استخوان از جمله مهمترین روشهای درمانی سرطان خون است، که در این میان شیمی درمانی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (۶-۸). در استراتژی شیمی درمانی از داروهای سایتوتوکسیک استفاده می‌شود که بر چرخه‌ی سلولهای سرطانی موثر بوده و با تولید رادیکالهای آزاد، فرایند مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) را در سلولهای سرطانی به جریان می‌اندازد و بدین صورت از

پیشرفت سلولهای سرطانی جلوگیری می‌کند (۹ و ۱۰). یکی از داروهای موثر در فرایند شیمی درمانی ترکیبی چهار حلقه‌ای به نام دوکسوروبیسین است که حلالیت نسبی در آب و پایداری زیاد در رطوبت و دماهای بالا از جمله ویژگیهای فیزیکوشیمیایی این ترکیب ضدسرطان به شمار می‌رود (۱۱). داروی دوکسوروبیسین متعلق به خانواده‌ی آنتی بیوتیک آنتراسایکلین است که به دلیل تمایل بالا در اتصال به DNA، در عملکرد آنزیم توپوایزومراز II اختلال فیزیکی ایجاد نموده و در نتیجه باعث اختلال در فرایند همانندسازی سلولها می‌شود (۱۰). اگرچه دوکسوروبیسین در درمان طیف وسیعی از سرطانها به کار می‌رود اما به دلیل غیرهدفمند بودن شیمی درمانی، عوارض جانبی زیادی را به دنبال دارد، بنابراین استفاده‌ی بالینی آن به دلیل عوارض جانبی بالا و بروز مقاومت دارویی با چالش روبرو گردیده است (۱۲). از این رو نانوپزشکی به دنبال استفاده از ابزارها و نانوحامل‌هایی است که در سطح مولکولی با بدن وارد تعامل می‌شوند، تا از این طریق با انتقال دارو به بافت مورد نظر، کارایی درمان را افزایش و عوارض جانبی را کاهش دهد (۱۳). در این میان از نانوحاملهای لیپیدی از جمله لیپوزوم و نیوزوم می‌توان به عنوان راهکارهایی نوین جهت دارو رسانی به بافتهای سرطانی اشاره نمود (۱۴).

نیوزومها، وزیکولهای سورفکتانت‌های غیریونی هستند که از هیدراتاسیون کلسترول با سورفکتانت‌های غیریونی در محیط آبی تهیه می‌شوند. کلسترول برای دو لایه سختی را فراهم می‌کند که باعث شکل‌گیری نیوزوم‌هایی با نفوذپذیری کمتر خواهند شد (۱۵). سورفکتانت‌های غیریونی نیز، سایز وزیکول را افزایش داده و به آن شارژ می‌دهند، این دو مورد باعث افزایش بازده به دام اندازی در نیوزوم‌ها می‌شوند (۱۶). طراحی آسان، زیست تخریب‌پذیری، زیست سازگار بودن، غیرایمونوژن بودن، انعطاف‌پذیری بالا، آهسته رهش بودن و غیره، بخشی از مزایای نیوزومهاست که آن را به یکی از مهمترین سیستمهای دارو رسانی مبدل کرده است (۱۷ و ۱۸). در مطالعه‌ی حاضر از رده‌ی سلولی KG-1 استفاده شده است که این رده سلولی پلئومورفیسیم قابل توجهی را نشان می‌دهد و با وجود درصدهای متفاوتی از لنفوسیتها و گرانولوسیتها بالغ در آن، اکثر سلولهای این رده در مراحل میوبلاست و پرومیوبلاست قرار دارند و به دلیل شباهت زیاد این رده با سلولهای بنیادی خون،

مختلفی از استوک داروی دوکسوروبیسین در ایزوپروپیل و PBS (Phosphate Buffered Saline) به روش سری استاندارد ساخته شد. سپس جذب نوری آنها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ماکزیمم دوکسوروبیسین (480 nm)، با تکرارهای ۳ تایی گرفته شده و سپس نمودار کالیبراسیون رسم و معادله خط و ضریب رگرسیون آن محاسبه گردید (۲۱).

#### • ساخت نیوزومهای حاوی دوکسوروبیسین هیدروکلراید

نیوزومهای حاوی دوکسوروبیسین به روش آبپوشانی لایه نازک و با نسبت‌های مولی جدول ۱ تهیه گردید، که خلاصه‌ی آن بدین شرح است: در مرحله‌ی نخست، فاز لیپید (فسفولیپید SPC، کلسترول، SPAN-60) و DSPE-PEG2000 در حلال کلروفرم و در دمای °C ۴۵ بر روی روتاری (هایدولف، آلمان) حل شده و در شرایط خلأ، فیلم نازک خشک تهیه گردید. همچنین جهت اطمینان از حذف کامل حلال، فیلم نازک لیپیدی چندین دقیقه با گاز نیتروژن هوا دهی گردید. در مرحله‌ی دوم، عمل هیدراته کردن با افزودن مقدار مشخصی بافر PBS همراه با داروی دوکسوروبیسین، طی مدت ۶۰ دقیقه و در دمای °C ۵۵ انجام گردید. در پایان، با استفاده از سونیکیت پروبی با توان ۴۰٪ و ۶۰٪ برای مدت ۱۰ دقیقه کاهش سایز داده شد (۲۱ و ۲۲).

جدول ۱: نسبت‌های مولی جهت تهیه‌ی سامانه‌ی نیوزومی بهینه‌ی حاوی داروی دوکسوروبیسین

| درصد مولی DSPE-PEG2000 | درصد مولی کلسترول | درصد مولی Span60 | درصد مولی SPC | نسبت لیپید به دارو |
|------------------------|-------------------|------------------|---------------|--------------------|
| ۵                      | ۲۲/۵              | ۵۲/۵             | ۲۰            | ۱۰                 |

در ایزوپروپیل، و رابطه (۱)، درصد درون‌گیری دوکسوروبیسین در نیوزوم محاسبه گردید (۲۱).

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

رابطه (۱)

#### • بررسی روند رهایش دارو از سامانه‌ی بهینه‌ی نیوزومی

بررسی الگوی رهایش داروی دوکسوروبیسین از نانوسامانه‌ی بهینه شده‌ی نیوزومی درون بافر PBS به صورت ۳ بار تکرار و در شرایط سلول نرمال (°C ۳۷ و pH=۷/۴) و سلول سرطانی (°C ۴۴ و pH=۵/۴) انجام گرفت. برای این منظور مقدار مشخصی از محلول نیوزومی حاوی دارو، درون کیسه دیالیز قرار گرفت. سپس

مدل مناسبی برای تحقیقات لوکومیک می‌باشند (۱۹ و ۲۰). بنابراین با توجه عوارض جانبی بالای داروهای شیمی درمانی از یک سو و نقش حامل‌های لیپیدی در رسانش موثرتر داروها به سلولها، هدف از پژوهش حاضر ساخت و بررسی فیزیوشیمیایی نانوحامل‌های نیوزومی حاوی داروی دوکسوروبیسین و بررسی میزان سمیت سلولی آن بر روی رده سلولی KG-1 سرطان مغز استخوان می‌باشد.

## روش بررسی

### • مواد شیمیایی

داروی دوکسوروبیسین هیدروکلراید به صورت ویال‌های تزریقی با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متعلق به شرکت Cell pharm GmbH آلمان، فسفولیپید سویا (SPC) و سوربیتان مونو استئارات (SPAN-60) متعلق به شرکت Lipoid GmbH آلمان، کلسترول متعلق به شرکت Merck آلمان و پلیمر DSPE-PEG2000 متعلق به شرکت Northern Lipid Inc آلمان، تهیه و خریداری شد.

### • ترسیم نمودار کالیبراسیون دوکسوروبیسین هیدروکلراید

### و به دست آوردن معادله خط

به منظور رسم نمودار کالیبراسیون دارو، غلظت‌های

### • تعیین درصد بارگذاری دارو در نیوزوم

برای این منظور ابتدا نیوزومهای حاوی دارو را بعد از کاهش سایز وارد کیسه دیالیز نموده و به مدت یک ساعت درون بشری محتوی بافر PBS (حجم بافر درون بشر سه برابر حجم نمونه نیوزومی) و در دمای °C ۴ قرار داده شد تا دوکسوروبیسین آزاد و انکپسوله نشده حذف گردد. سپس نیوزومهای ساخته شده را با نسبت‌های حجمی ۹:۱ با ایزوپروپیل مخلوط کرده تا دیواره لیپیدی اطراف دوکسوروبیسین شکسته شود و دارو آزاد گردد. در مرحله بعد میزان جذب دوکسوروبیسین انکپسوله شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ماکزیمم دوکسوروبیسین (480 nm) محاسبه شد. در پایان با استفاده از نمودار استاندارد دوکسوروبیسین

می‌گذاریم خشک شود سپس روی نمونه، اپراتور، پوشش طلا داده و تصویر تهیه می‌گردد).

#### • رده سلولی و محیط کشت

این مطالعه در محیط آزمایشگاه و با استفاده از رده سلول‌های مغز استخوان (KG-1) انجام شد. رده سلولی KG-1 از بانک سلولی انستیتو پاستور (تهران، ایران) تهیه شد. مورفولوژی این نوع از سلول مورفولوژی کروی و suspension بوده است. مورفولوژی با منابع، تطبیق داده شده است و طی امور کشت سلولی هیچ‌گونه آلودگی متقاطع یا Cross-contamination از لاین‌های دیگر سلولی مشاهده نشد و سلول‌های این رده سلولی در فلاسک‌های یک بار مصرف کشت سلول در محیط کشت RPMI-1640، ۱۵ درصد FBS، در دمای ۳۷ °C با فشار ۵٪ از CO<sub>2</sub> و ۹۵٪ بخار آب کشت داده شد.

#### • تعیین سمیت سلولی و زنده‌مانی سلول

سمیت سلولی با روش MTT برای فرمولاسیون مطالعه شده به کار گرفته شد. به منظور اندازه‌گیری سمیت، سلول‌های KG-1 سرطان مغز استخوان به طور جداگانه با غلظت ۱۰<sup>۲</sup> در هر چاهک در پلیت ۹۶ تایی به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس سلول‌ها با حجم یکسانی از محیط کشت تازه، تیمار شدند (حجم یکسانی از محیط کشت تازه اضافه شد) و غلظت‌های متفاوتی از داروی دوکسوروبیسین آزاد و نیوزوم حاوی دوکسوروبیسین (۱، ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به صورت چهار بار تکرار در چاهک‌ها تزریق شد. پس از آن مجدداً به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس میزان ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه و به مدت ۳ ساعت انکوبه شد. بعد از آن مایع رویی خارج شد و به منظور حل کردن کریستال‌های فورمازون ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید. در هر مرحله برای خارج کردن مایع رویی، سانتیفریژ صورت گرفت. جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از الیزا ریدر ثبت گردید و در نهایت با توجه به رابطه‌ی ۲ درصد زنده‌مانی سلول‌ها محاسبه شد.

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

رابطه (۲)

#### • روش آماری

در پژوهش حاضر تمامی اعداد با استفاده از میانگین و انحراف معیار داده‌ها از میانگین در محیط Excel بیان شده است.

کیسه‌ی دیالیز محتوی محلول نیوزومی درون فالكونی با شرایط یاد شده (شرایط سلول سرطانی و شرایط سلول نرمال) قرار داده شد و کل مجموعه استیرر گردید و همزمان با انجام استیرر عمل برداشت نمونه از محیط بافتری اطراف کیسه‌ی دیالیز در زمانهای مشخص (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۸، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) انجام گرفت. در انتها با بهره‌گیری از معادله‌ی کالبراسیون دوکسوروبیسین در بافر PBS نسبت به محاسبه غلظت‌های آزاد شده‌ی دارو در دماهای ۳۷ °C و ۴۴ °C و به ترتیب با pH های ۷/۴ و ۵/۴ در زمان‌های مختلف و رسم نمودار آن اقدام گردید (۲۲ و ۲۱).

#### • تعیین اندازه‌ی نانو ذرات و ضریب پراکندگی و پتانسیل

زتا

پتانسیل زتای (Zeta-Potential) فرمولاسیون نیوزومی، شاخص پراکندگی (Polydispersity Index) و سایز آنها، با استفاده از دستگاه زتا سایزر Brookhaven Instruments Corp در دمای ۲۵ °C و زاویه ۹۰° اندازه‌گیری گردید. برای تعیین بار سطحی و اندازه‌ی نانوذرات به ترتیب از ۱۵۰۰ μL و ۶۰۰ μL نمونه با غلظت ۰/۱ mg/ml استفاده گردید.

#### • آنالیز سامانه‌ی نیوزومی حاوی دوکسوروبیسین، توسط

دستگاه طیف سنجی مادون قرمز

برای این منظور حامل‌های نیوزومی با سانتیفریژ از سوسپانسیون جدا شده و محلول اضافی تبخیر گردید. نمونه‌ها با KBr مخلوط شده و در درون پلیت فشرده می‌شوند. طیف FT-IR به منظور بررسی گروه‌های عاملی نانویوزوم در محدوده طول موج ۴۰۰-۴۰۰۰ cm<sup>-1</sup> برای نمونه‌های جامد، و طیف ۴۰۰-۴۰۰۰ AT-IR cm<sup>-1</sup> برای نمونه‌های مایع، اسکن گردید. در نهایت طیف FT-IR سامانه‌ی حاوی دارو و سامانه‌ی فاقد دارو به منظور بررسی برهمکنش‌های شیمیایی احتمالی میان دارو و نانوسامانه، باهم مقایسه گردیدند.

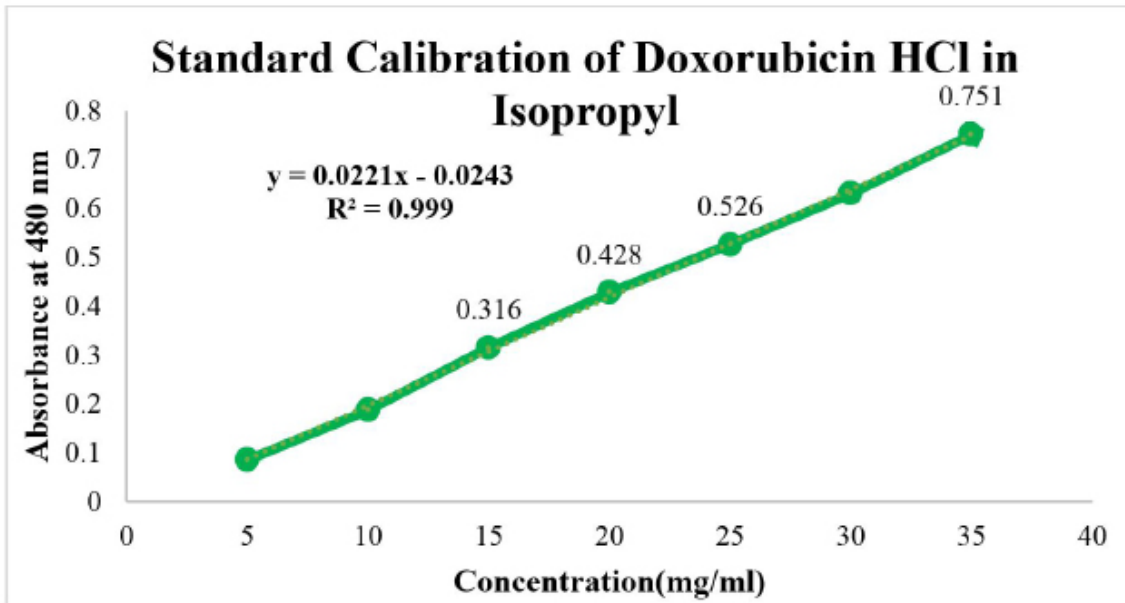
#### • تصویربرداری از نانویوزومهای حاوی دوکسوروبیسین

از نانویوزوم‌ها دارای داروی دوکسوروبیسین با استفاده از میکروسکوپ الکترونیکی روبشی (SEM) (Scanning Electron Microscope) و FE-SEM (Field Emission Scanning Electron Microscopy) به منظور بررسی شکل و ساختار نانویوزوم‌های تولیدی حامل دارو تصویر گرفته شد (از نمونه با غلظت ۰/۱ mg/ml یک قطره روی لام ریخته و

### یافته‌ها

• میزان درون‌گیری دارو و بررسی الگوی رهایش دوکسوروبیسین از نیوزمهای پگیله شده

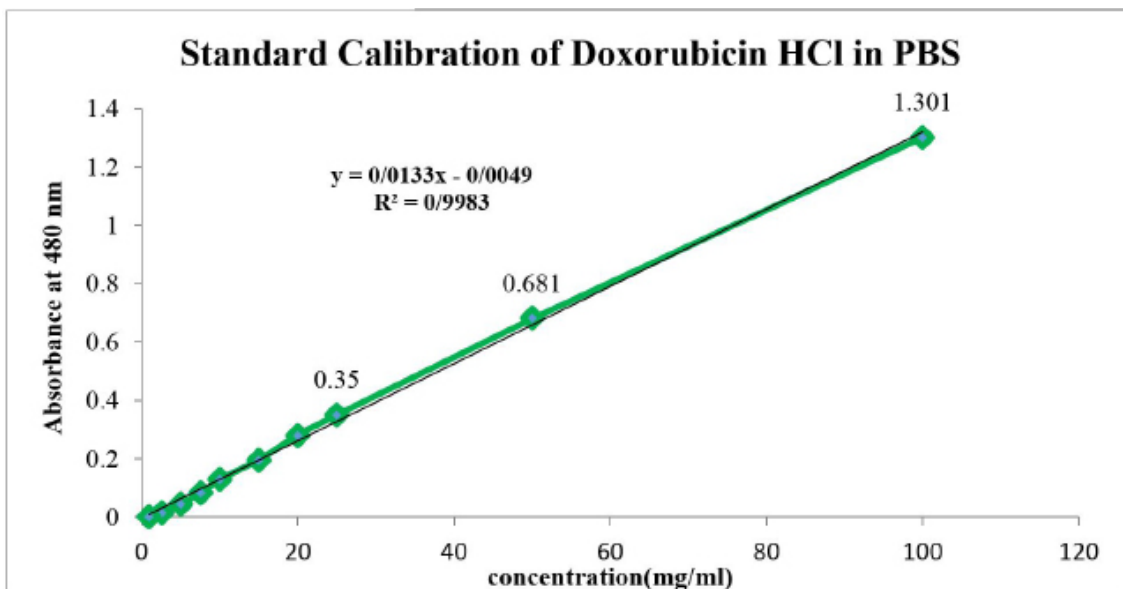
همچنین بررسی معنی داری ( $P\text{-Value} < 0.05$ ) نتایج حاصل از آزمون سمیت (MTT) با استفاده از آزمون Ordinary Anova یک طرفه صورت پذیرفته است و تست مقایسه‌ی چندگانه نتایج حاصل از آزمون MTT از نوع Sidak بوده است.



نمودار ۱: نمودار کالیبراسیون دوکسوروبیسین در ایزوپروپیل

۱ درصد انکپسولاسیون در نانوسامانه‌ی نیوزومی ۹۴/۱۸ درصد محاسبه شد.

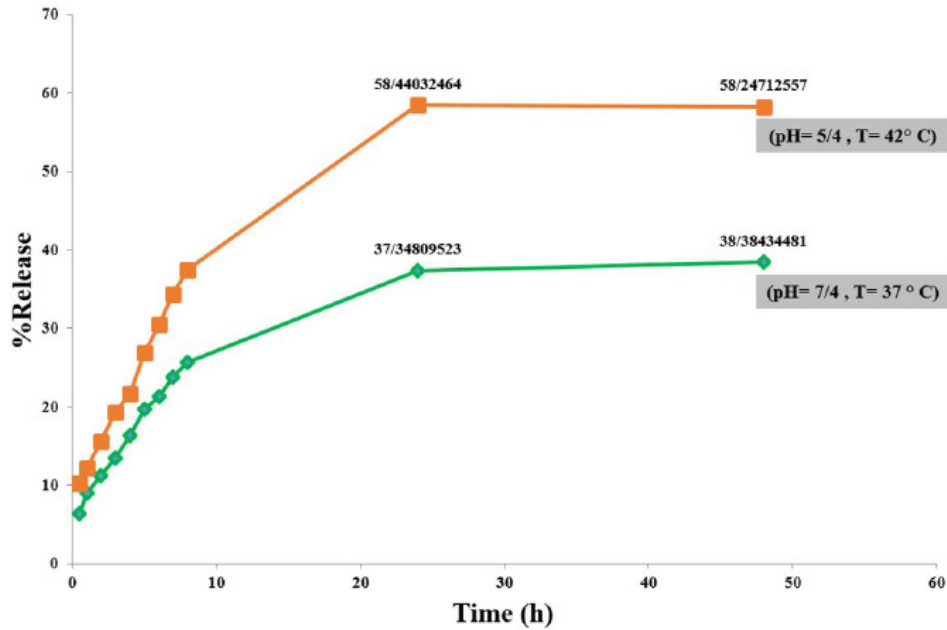
درصد بارگذاری دوکسوروبیسین، با توجه به نمودار کالیبراسیون دوکسوروبیسین (نمودار ۱) و با استفاده از رابطه‌ی



نمودار ۲: نمودار کالیبراسیون دوکسوروبیسین در PBS

مشخص و برای شرایط سلول نرمال ( $37^\circ\text{C}$  و  $\text{pH}=7.4$ ) و سلول سرطانی ( $44^\circ\text{C}$  و  $\text{pH}=5.4$ ) رسم گردید (نمودار ۳).

هم چنین با استناد به نمودار کالیبراسیون در بافر PBS (نمودار ۲)، نمودار رهایش داروی دوکسوروبیسین در زمانهای



نمودار ۳: نمودار (رهایش داروی دوکسوروبیسین از نانویوزوم در شرایط سلول سرطانی(بالا) و نرمال(پایین)

است.

• اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا برای نانوسامانه‌ی

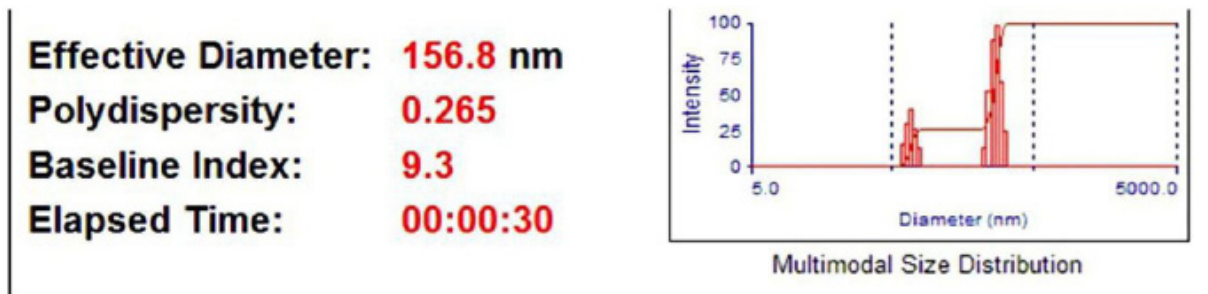
پگیله شده‌ی نیوزومی

بررسی الگوی رهایش دارو با توجه به نمودار ۳ نشان

می‌دهد که نانوسامانه‌ی طراحی شده، ضمن برخورداری از رهایش

کنترل شده، حداکثر رهایش آن در طی مدت ۴۸ ساعت، در شرایط

سلولهای نرمال و سرطانی به ترتیب ۳۸/۳۸ درصد و ۵۸/۲۴ درصد



| Run        | Eff. Diam. (nm) | Half Width (nm) | Polydispersity | Baseline Index |
|------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1          | 160.2           | 75.9            | 0.225          | 7.1            |
| 2          | 164.3           | 80.3            | 0.238          | 7.7            |
| 3          | 160.2           | 73.2            | 0.209          | 5.9            |
| 4          | 156.8           | 80.7            | 0.265          | 9.3            |
| Mean       | 160.4           | 77.5            | 0.234          | 7.5            |
| Std. Error | 1.6             | 1.8             | 0.012          | 0.7            |
| Combined   | 160.4           | 77.1            | 0.231          | 8.2            |

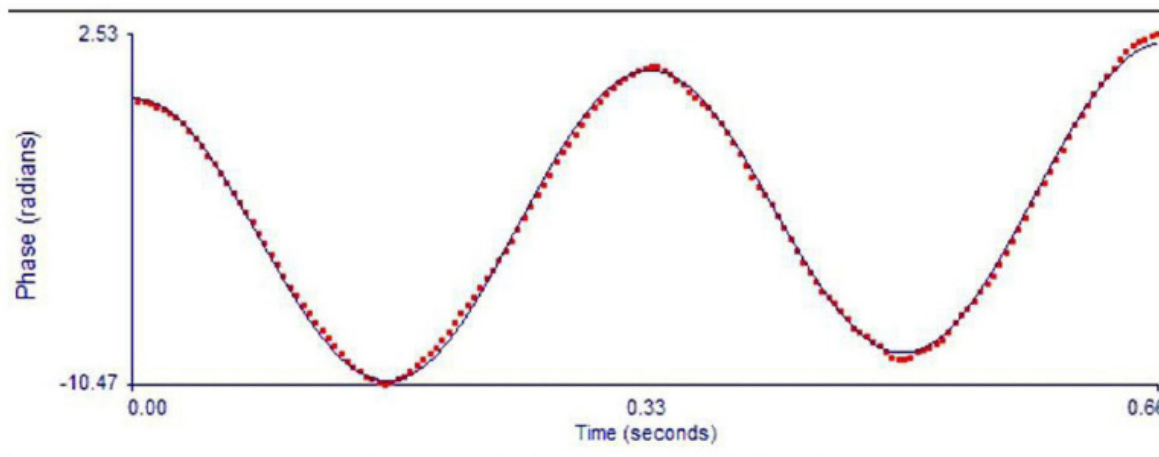
شکل ۱: اندازه نانوسامانه‌ی نیوزومی دارای دوکسوروبیسین

۱). همچنین با توجه به شکل ۲، میزان پتانسیل زتا این سامانه  $-58.11 \pm 1.24 \text{ mV}$  است.

نتایج حاصل از دستگاه DLS نشان می‌دهد که نانوسامانه‌ی پگیله شده‌ی حاوی داروی دوکسوروبیسین، دارای اندازه‌ی  $160.37 \pm 2.65 \text{ nm}$  و شاخص پراکندگی (PDI)  $0.234 \pm 0.02$  است (شکل

| Measurement Parameters: |                                    |                             |
|-------------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| Mean Zeta Potential     | = -58.11 mV                        | Liquid = Water              |
| Zeta Potential Model    | = Smoluchowski                     | Temperature = 25.0 °C       |
| Mean Mobility           | = -4.54 ( $\mu\text{s}$ ) / (V/cm) | Viscosity = 0.890 cP        |
| pH                      | = 7.00                             | Refractive Index = 1.330    |
| Conductance             | = 11 $\mu\text{S}$                 | Dielectric Constant = 78.54 |
| Concentration           | = 0.20 mg/mL                       | Particle Size = 0.0 nm      |

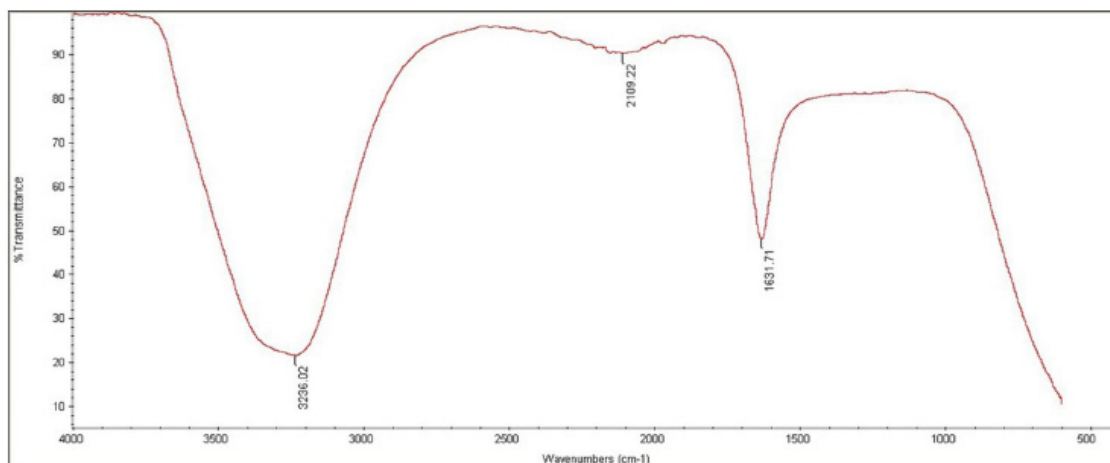
| Instrument Parameters: |            |                             |
|------------------------|------------|-----------------------------|
| Sample Count Rate      | = 222 kcps | Voltage = 4.00 volts        |
| Ref. Count Rate        | = 486 kcps | Electric Field = 10.46 V/cm |
| Wavelength             | = 657.0 nm | User1 = 0.00                |
| Field Frequency        | = 3.00 Hz  | User2 = 0.00                |
| Cycles Per Run         | = 15       |                             |



| Run               | Mobility     | Zeta Potential | Rel. Residual |
|-------------------|--------------|----------------|---------------|
| 1                 | -4.64        | -59.35         | 0.0367        |
| 2                 | -4.44        | -56.87         | 0.0458        |
| <b>Mean</b>       | <b>-4.54</b> | <b>-58.11</b>  | <b>0.0412</b> |
| <b>Std. Error</b> | <b>0.10</b>  | <b>1.24</b>    | <b>0.0045</b> |
| <b>Combined</b>   | <b>-4.54</b> | <b>-58.11</b>  | <b>0.0121</b> |

شکل ۲: پتانسیل زتا نانوسامانه‌ی نیوزومی دارای دوکسوروبیسین

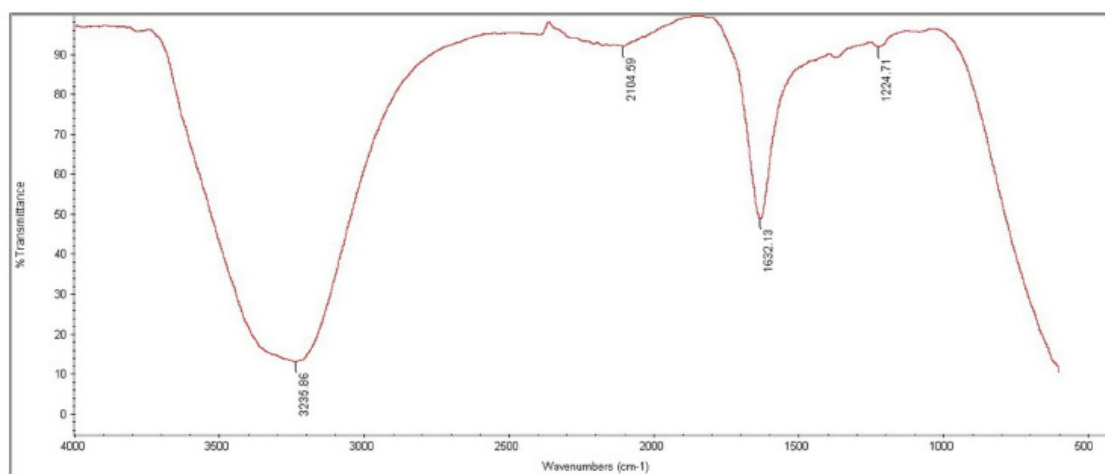
## • بررسی برهمکنش میان دارو و نانوسامانه



نمودار ۴: طیف FT-IR داروی دوکسوروبیسین

گروه OH، و پیک  $1631/71 \text{ cm}^{-1}$  مشخص کننده‌ی گروه عاملی C=O می‌باشد.

با توجه به طیف FT-IR داروی دوکسوروبیسین (نمودار ۴)، پیک‌های شاخص  $1631/71 \text{ cm}^{-1}$ ،  $3236/02 \text{ cm}^{-1}$  و  $2109/22 \text{ cm}^{-1}$  را نشان می‌دهد، که پیک  $3236/02 \text{ cm}^{-1}$  مشخصه‌ی

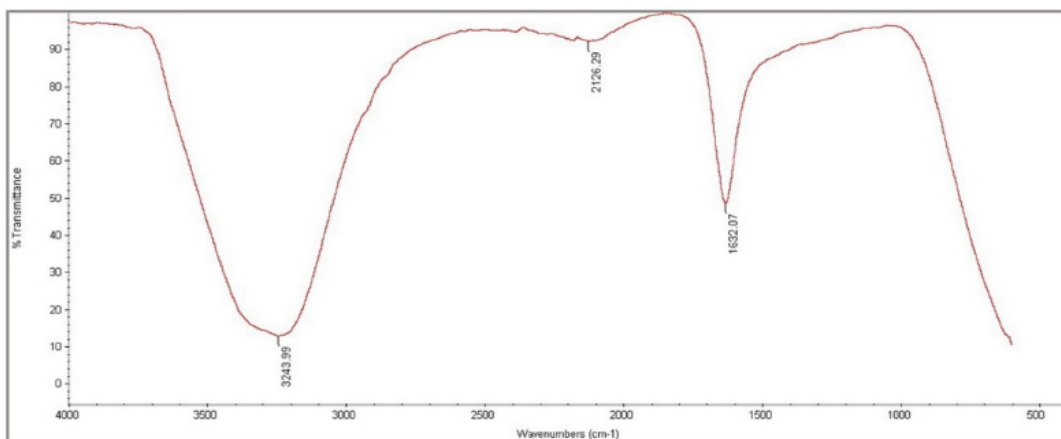


نمودار ۵: نمودار FT-IR نانویوزوم دارای دوکسوروبیسین

پیکهای  $1632/07 \text{ cm}^{-1}$ ،  $2126/29$  و  $3243/99$  در سامانه‌ی فاقد دوکسوروبیسین (نمودار ۶) با اندکی تغییر به ترتیب با پیک‌های  $1632/13 \text{ cm}^{-1}$ ،  $2104/59$  و  $3235/86$  در سامانه‌ی حاوی دارو (نمودار ۵)، جابه‌جا شده است. بنابراین از آنجاکه در طیف FTIR سامانه‌ی نیوزوم حاوی دارو هیچ پیک جدیدی ایجاد نشده و پیکی هم ناپدید نشده است، میان سامانه و دارو فعل و انفعال شیمیایی رخ نداده است و دارو و سامانه ماهیت خود را حفظ نموده‌اند.

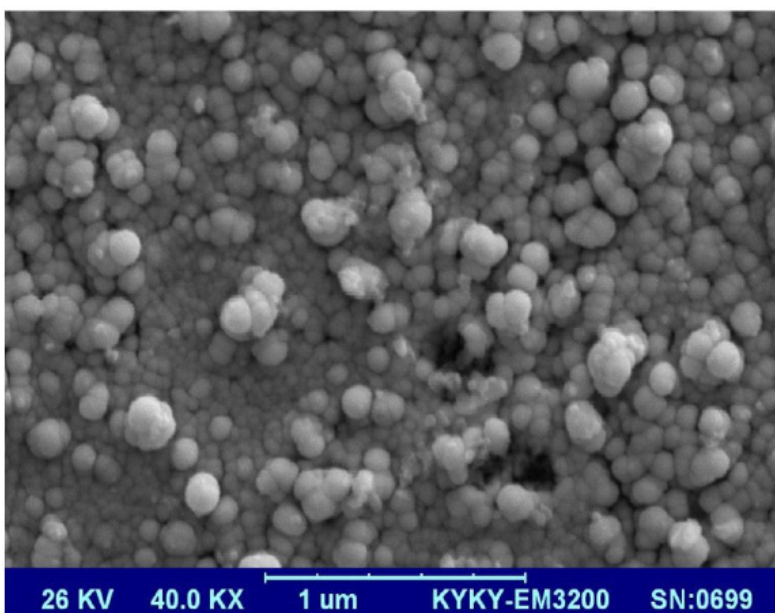
همچنین پیک‌های شاخص طیف IR-FT سامانه نیوزوم حاوی دوکسوروبیسین (نمودار ۵) عبارتند از: پیک پهن ناحیه  $3235/86 \text{ cm}^{-1}$  مشخصه‌ی گروه OH و پیک  $1632/13 \text{ cm}^{-1}$  مشخصه‌ی ارتعاش کششی C=O می‌باشد. با مقایسه‌ی طیف ناشی از نانوسامانه‌ی فاقد دارو و نانوسامانه‌ی حاوی دارو مشخص می‌شود که ورود دارو به سامانه تغییراتی جزئی در پیک‌های شاخص سامانه حاوی دارو نسبت به سامانه فاقد دارو ایجاد شده است که نشان می‌دهد دارو درون سامانه لود شده است. به عنوان مثال



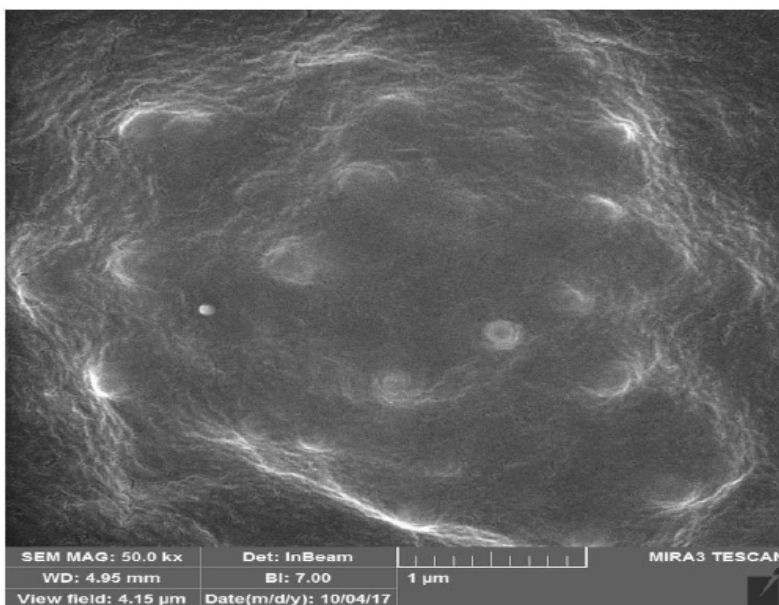


نمودار ۶: طیف FT-IR نانو نیوزوم فاقد دارو

• بررسی مورفولوژی نانوسامانه‌ی دارای داروی دوکسوروبیسین



شکل ۳: تصویر میکروسکوپ SEM از نانونیوزوم دارای دارو

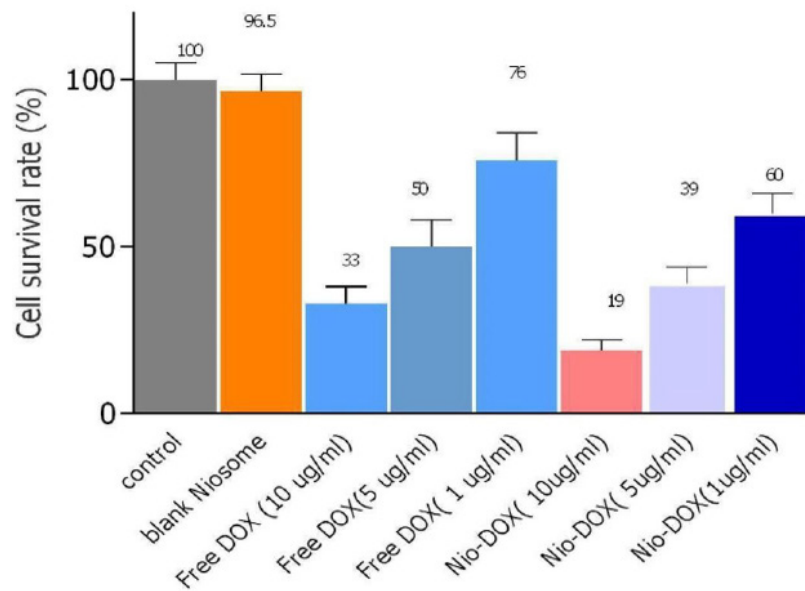


شکل ۴: تصویر میکروسکوپ FE-SEM از نانونیوزوم دارای دارو

یکنواخت و همگن، دارای توزیع مناسب و ساختار کروی هستند به گونه‌ای که مرز میان ذرات به خوبی قابل تشخیص است.

• بررسی سمیت سلولی

شکل ۳ و ۴، شکل ظاهری نانوذرات حاوی دارو را نشان می‌دهد که به ترتیب توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM و FE-SEM گرفته شده است. همان‌گونه که در این تصاویر مشخص است، نانوذرات تولید شده ضمن برخورداری از مورفولوژی

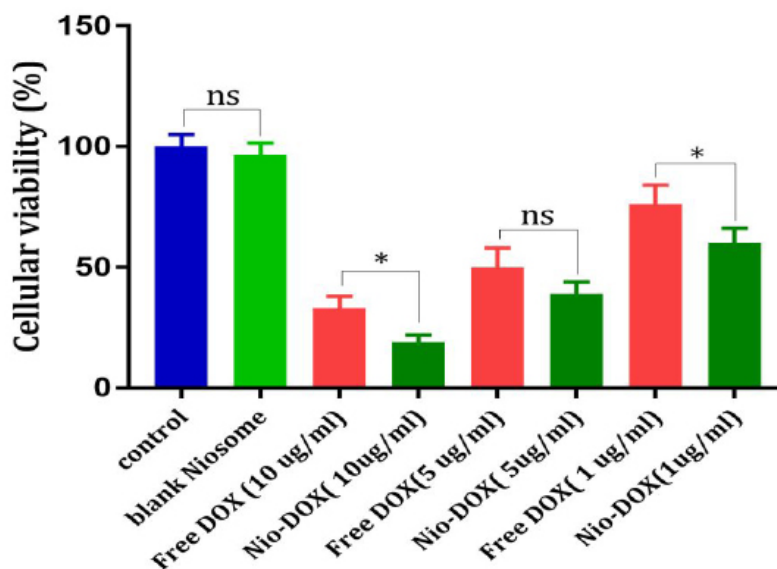


نمودار ۷: مقایسه‌ی سمیت سلولی نانویوزومهای فاقد دارو، داروی دوکسوروبیسین آزاد و دوکسوروبیسین نیوزومه

یافته است، در حالی‌که این اثر برای دوکسوروبیسین انکپسوله شده به مراتب کمتر بوده است (شکل ۳). همچنین بقای بیش از ۹۰ درصد سلولها، تحت تاثیر سامانه نیوزومی فاقد دارو نشان می‌دهد که این سامانه‌ی نیوزومی سمیتی برای سلولها ندارد.

بررسی میزان بقای سلولی با استفاده از روش MTT نشان داد که سامانه نیوزومی حاوی داروی دوکسوروبیسین رشد سلولهای KG-1 را به صورت وابسته به دوز کاهش می‌دهد، به گونه‌ای که با افزایش غلظت داروی دوکسوروبیسین از ۱  $\mu\text{g/ml}$  به ۱۰  $\mu\text{g/ml}$  در نانوسامانه‌های نیوزومی، میزان سمیت دارو افزایش

Ordinary one-way Anova test of KG-1 MTT Results (Sidak's multiple comparisons test)



نمودار ۸: بررسی معنادار بودن نتایج حاصل از آزمون MTT

در سال ۲۰۰۸، Paolino و همکاران سیستم انتقال دارو، نانو کپسول نیوزومی حاوی داروی 5-fluorouracil را طراحی کردند. جهت درمان سرطان پوست نانو کپسول به عنوان دارویی موضعی به سلول های SKMEL-28 (ملانوما انسانی) و HaCaT (غیر ملانوم سرطان پوست با یک جهش خاموش در ژن سرکوبگر تومور P53) عرضه شد و در این بررسی افزایش نفوذپذیری دارو ۴ تا ۸ برابر مشاهده گردید (۲۴). همچنین Cosco و همکاران در سال ۲۰۰۹ نانو کپسول نیوزومی حامل داروی 5-fluorouracil را جهت درمان سرطان پستان به سلول های MCF-7 و T47D موشی عرضه کردند و در این مطالعه افزایش سیتوتوکسیک داروی مذکور (در غلظتی ۱۰ برابر کمتر از حالت محلول دارو) مشهود بود (۲۵). این پژوهشها همانند پژوهش حاضر، تاییدی بر افزایش فعالیت ضدسرطانی داروهای سیتوتوکسیک کپسوله شده می باشد.

در سال ۲۰۱۳، Anbarasan و همکاران نانو کپسول نیوزومی حامل داروی Capecitabine علیه سرطان کولورکتال را ارایه کردند. در این تحقیق افزایش پایداری و رهایش آهسته‌ی داروی کپسوله شده تایید شد (۲۶).

در مطالعه‌ی Tavano و همکاران در سال ۲۰۱۳ طراحی نوآورانه‌ی سیستم تحویل دارو، شامل نانوکپسول نیوزومی حامل داروی ضدسرطان doxorubicin hydrochloride را ارایه دادند. بعد از طراحی، به منظور افزایش جذب نیوزوم توسط سلول‌ها از طریق گیرنده‌ی ترانسفرین این نانو کپسول به ترانسفرین نیز کونژوگه شد. سپس نانوکپسول مذکور به سلول‌های MCF-7 و MDA-MB-231 عرضه شده در این مطالعه نیوزوم طراحی شده به عنوان یک داروی ضد سرطان مفید، تایید شد (۲۷).

Shah و همکاران در سال ۲۰۱۶، فرمولاسیونهای مختلفی از نانونیوزومهای حاوی داروی ناپروکسن را تهیه و گزارش نمودند که اندازه، حداکثر لود دارو و رهایش دارو طی ۱۲ ساعت در این نانسامانه با توجه به فرمولاسیونهای مختلف به ترتیب بین ۳۸۱ تا ۴۱۴ نانومتر، ۶۰/۳۶ تا ۷۱/۹۸ درصد و ۶۵/۹۱ تا ۷۵/۲۴ درصد متغیر بوده است. رهایش آهسته‌تر، اندازه‌ی کمتر و انکپسولاسیون بیشتر، از جمله مزایای پژوهش حاضر نسبت به پژوهش Shah و همکاران است (۲۸).

یوسفی علداشی و همکاران در سال ۲۰۱۶، سمیت نانولیپوزومهای مغناطیسی حاوی پاکلی تاکسل را بر روی سرطان تخمدان بررسی نمودند که به این نتیجه دست یافتند که داروی لیپوزوم نسبت به داروی آزاد سمیت بالاتری دارد (۲۹). همچنین قنبری و همکاران در

همچنین بررسی معنادار بودن نتایج آزمون سمیت سلولی (MTT) نشان می‌دهد که (نمودار ۸)، گروه کنترل با سامانه‌ی فاقد دارو (Blank Niosome) رابطه‌ی معنادار نداشته است. مقایسه‌ی گروه‌های نیوزومی با داروی دوکسوروبیسین در غلظت‌های ۱ و ۱۰  $\mu\text{g/mL}$  حاکی از وجود رابطه‌ی معنی داری (به ترتیب  $P\text{-Value} < 0/05$  و  $P\text{-value} > 0/05$ ) بوده است. در غلظت ۵  $\mu\text{g/mL}$  هیچ گونه رابطه معنی داری ( $P\text{-value} > 0/05$ ) میان حامل های نیوزومی و داروی آزاد مشاهده نگردیده است، اما نتایج MTT در تمامی گروه‌ها نشان از اثرگذاری به مراتب بیشتر فرم نیوزومه در مقایسه با داروی آزاد بوده است.

## بحث

در مطالعه‌ی حاضر نانسامانه‌های دارای داروی دوکسوروبیسین با اندازه‌ی  $160/37 \pm 2/65$  nm، شاخص پراکندگی  $0/234 \pm 0/02$  و پتانسیل زتای  $-58/11 \pm 1/24$  mV تهیه شده است، که راندمان انکسولاسیون آن ۹۴/۱۸ درصد بوده است. بررسی FT-IR و SEM آن حاکی از عدم برهمکنش میان دارو و سامانه و مورفولوژی یکنواخت و همگن نانسامانه است. این پژوهش ضمن تایید آهسته رهش بودن سامانه‌ی نیوزومی، نشان می‌دهد که حداکثر رهایش دارو در طی ۴۸ ساعت، در شرایط سلولهای نرمال و سرطانی به ترتیب ۳۸/۳۸ درصد و ۵۸/۲۴ درصد است. همچنین در بررسی سلولی آن مشخص شد که میزان سمیت داروی دوکسوروبیسین نیوزومه شده در غلظتهای مختلف برای سلولهای مغز استخوان سرطانی شده، نسبت به داروی نیوزومه نشده در غلظتهای مختلف، به مراتب بیشتر است. با توجه به کارایی بالای نانوذرات لیپیدی در رسانش هدفمند دارو به سلولها، پژوهشهای متعددی بر روی این نانوحاملهای دارویی انجام گرفته است که بخشی از آنها در ادامه بیان و به مقایسه‌ی آنها با پژوهش حاضر پراخته شده است.

در مطالعه Thigpen و همکاران در سال ۲۰۰۵، تاثیر پگیله کردن لیپوزومهای حاوی دوکسوروبیسین بر سلولهای سرطانی تخمدان بررسی شده است که افزایش فعالیت ضدتوموری، کاهش عوارض جانبی، کاهش دوز مصرفی دارو جهت درمان، بهبود کیفیت زندگی بیماران و غیره، برای لیپوزوم پگیله شده حاوی دوکسوروبیسین تایید شد (۲۳). نتیجه‌ی این پژوهش همانند پژوهش حاضر نشان می‌دهد که انتقال داروهای ضدسرطان با استفاده از نانوحاملهای لیپیدی پگیله شده، به سلولهای سرطانی، باعث افزایش فعالیت ضدتوموری این داروها می‌شود.

گردید که میزان سمیت آن بر رده سلولی KG-1 سرطان مغز استخوان مورد مطالعه قرار گرفت، اما بررسی فرمولاسیونهای متفاوت نیوزومی دیگر، بررسی شرایط دمایی و اسیدپتیه متفاوت با پژوهش حاضر و نیز مطالعه درون تنی نانوسامانه‌ی مذکور از جمله کاستی‌ها و محدودیتهای پژوهش حاضر می‌باشد که می‌تواند در پژوهشهای آینده مورد بررسی قرار گیرد.

## نتیجه گیری

داروهای شیمی درمانی هر ساله در درمان طیف گسترده‌ای از سرطانها به کار می‌رود اما استفاده از آن عوارض جانبی زیادی به دنبال دارد که کیفیت زندگی افراد مبتلا به سرطان را کاهش می‌دهد، از این رو دستیابی به سیستمهای هدفمند دارورسانی به سلولهای سرطانی که عوارض جانبی ناشی از شیمی درمانی را به حداقل ممکن کاهش دهد، ضرورتی اجتناب ناپذیر است. یافته‌های ما در پژوهش حاضر فرمولاسیونی بهینه و نیمه هدفمند از نانوسامانه‌ی نیوزومی دارای دوکسوروبیسین را پیشنهاد می‌کند که ضمن تایید ویژگیهای فیزیکوشیمیایی مناسب آن، دارای انکپسولاسیون بالا، رهایش کنترل شده‌ی دارو در شرایط سلول سرطانی و نرمال و افزایش سمیت دارو در حالت انکپسوله شده در مقایسه با حالت آزاد است. بنابراین با توجه به شواهد فوق می‌توان نانوسامانه‌ی حاضر را به عنوان ترکیبی ضدتوموری به منظور بررسی‌های تکمیلی در جهت درمان سرطانهای مرتبط با مغز استخوان پیشنهاد نمود. در پایان، بررسی فرمولاسیونهای متنوع حاوی دوکسوروبیسین، ارزیابی سامانه نیوزومی بر روی رده‌های مختلف سلولهای سرطانی و بررسی درون تنی نانوسامانه فوق، به منظور تکمیل پژوهش حاضر، به پژوهشگران بعدی پیشنهاد می‌شود.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز پژوهشی بیوتکنولوژی پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد و همچنین جناب آقای هاشم شاهی مال میر تشکر و قدردانی می‌شود.

سال ۲۰۱۶، نانوذرات لیپوزومی حاوی سیس پلاتین جهت اثرگذاری بر HepG2 کارسینومای کبد انسانی تهیه نمودند و گزارش نمودند که انکپسولاسیون دارو باعث افزایش کارایی آن نسبت به حالت آزاد دارو می‌شود (۳۰). اگرچه نتیجه‌ی پژوهشهای علدashi و همکاران و قنبری و همکاران همانند پژوهش حاضر، افزایش فعالیت ضدتوموری ترکیبات انکپسوله شده را نشان می‌دهد، اما استفاده از نانوحامل نیوزومی در پژوهش حاضر از مزایای آن نسبت به پژوهشهای مذکور است.

Kanaani و همکاران در سال ۲۰۱۷، نیوزومهای حاوی کورکومین را با درصد انکپسولاسیون ۹۲/۳ درصد و رهایش ۸۰ درصد به روش Solvent evaporation تهیه و گزارش نمودند که میزان سمیت آن بر رده‌ی سلولی A2780 تخمدان نسبت به داروی آزاد کورکومین بیشتر است (۳۱). در سال ۲۰۱۷، نادری نژاد و همکاران نیوزومهای حاوی کورکومین را به منظور اثرگذاری بر سرطان استخوان تهیه کرده و گزارش نمودند که کورکومین نیوزومه نسبت به کورکومین آزاد، به نسبت بیشتری مانع رشد سلولهای سرطان استخوان می‌شود (۳۲). همچنین در سال ۲۰۱۷، نادری نژاد و همکاران نانولیپونیوزومهای حاوی دوکسوروبیسین تهیه و سمیت آن را بر رده‌های سلولی KG-1، Saos-2 و MG-63، سنجیده و گزارش نمودند که دوکسوروبیسین انکپسوله شده باعث کاهش بیشتر بقای سلولهای سرطانی نسبت به شکل آزاد این دارو می‌شود. این پژوهشها همانند پژوهش حاضر تاییدی بر افزایش فعالیت ضدتوموری، داروهای ضدسرطان نیوزومه است (۳۳).

در سال ۲۰۱۸، حقیرالسادات و همکاران، ضمن تهیه‌ی لیپوزومهای دارای دوکسوروبیسین به منظور اثرگذاری بر سلولهای سرطان استخوان، به این نتیجه دست یافتند که سمیت داروی دوکسوروبیسین در شرایط کپسوله نسبت به شرایط آزاد بیشتر است (۳۴). اگرچه نتیجه‌ی پژوهش حقیرالسادات و همکاران همانند پژوهش حاضر، افزایش فعالیت ضدتوموری ترکیبات انکپسوله شده را نشان می‌دهد، اما استفاده از نانوحامل نیوزومی در پژوهش حاضر از مزایای آن نسبت به پژوهش حقیرالسادات و همکاران است. پژوهش حاضر اگرچه منتهی به ساخت نانوسامانه‌ی حاوی داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین با ویژگیهای فیزیکوشیمیایی مناسب

## منابع

1. Vafajo Diantai Z, Abedini Z, Ahmari Tehran H & Mohamadgholizade L. Epidemiology of cancer in Qom, Iran 2008-2011. Payesh 2014; 13(2): 155-63[Article in Persian].

2. World Health Organization. Cancer control: A global snapshot in 2015. Available at: [https://www.who.int/cancer/Cancer\\_Control\\_Snapshot\\_in\\_2015.pdf?ua=1](https://www.who.int/cancer/Cancer_Control_Snapshot_in_2015.pdf?ua=1). 2015.
3. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *The Lancet Oncology* 2001; 2(9): 533-43.
4. Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, et al. *Molecular cell biology*. 7<sup>th</sup> ed. USA: W. H. Freeman; 2013: 1113-5.
5. Pecorino L. *Molecular biology of cancer mechanism, targets and therapeutics*. 3<sup>rd</sup> ed. United Kingdom: Oxford University Press; 2012: 2-4.
6. Saffari A, Rahgozar M, Shahi F & Biglarian A. Survival analysis of acute Myeloid Leukemia. *Razi Journal of Medical Sciences* 2015; 22(134): 43-8[Article in Persian].
7. Hashemi A, Besharati AA, Taghipour SH & Bahrami A. Frequency of various malignant disease in children younger than 10 years in Yazd. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2007; 14(4): 9-14[Article in Persian].
8. Zand AM, Imani S, Sa'adati M, Borna H, Ziaei R & Honari H. Effect of age, gender, blood group on blood cancers types. *Kowsar Medical Journal* 2010; 15(2): 111-4[Article in Persian].
9. Pigram WJ, Fuller W & Hamilton LD. Stereochemistry of intercalation: Interaction of Daunomycin with DNA. *Nature: New Biology* 1972; 235(53): 17-9.
10. Jain D. Cardiotoxicity of Doxorubicin and other Anthracycline derivatives. *Journal of Nuclear Cardiology* 2000; 7(1): 53-62.
11. Kaufmann SH & Earnshaw WC. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. *Experimental Cell Research* 2000; 256(1): 42-9.
12. Al-Lazikani B, Banerji U & Workman P. Combinatorial drug therapy for cancer in the post-genomic era. *Nature Biotechnology* 2012; 30(7): 679-92.
13. 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 and Surfaces B, Biointerfaces* 2013; 109(1): 307-16.
14. Mirahmadi N, Babaei MH, Vali AM & Dadashzadeh S. Effect of liposome size on peritoneal retention and organ distribution after intraperitoneal injection in mice. *International Journal of Pharmaceutics* 2010; 383(1): 7-13.
15. Jain S, Jain V & Mahajan SC. Lipid based Vesicular drug delivery systems. *Advances in Pharmaceutics* 2014; 2014(1): 1-12.
16. Kuotsu K, Karim K, Mandal A, Biswas N, Guha A, Chatterjee S, et al. Niosome: A future of targeted drug delivery systems. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* 2010; 1(4): 374-80.
17. Kumar A, Pal J, Jaiswal A & Singh V. Review on niosomes as novel drug delivery system. *International Research Journal of Pharmacy* 2011; 2(5): 61-5.
18. Mujoriya RZ, Dhamandeb K & Bodla RB. Niosomal drug delivery system—A review. *International Journal of Applied Pharmaceutics* 2011; 3(3): 7-10.
19. Furley AJ, Reeves BR, Mizutani S, Altass LJ, Watt SM, Jacob MC, et al. Divergent molecular phenotypes of KG1 and KG1a myeloid cell lines. *Blood Journal* 1986; 68(5): 1101-7.
20. Koeffler HF & Golde DW. Human Myeloid Leukemia cell lines: A review. *Blood Journal* 1980; 56(3): 344-50.
21. 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. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2018; 25(11): 853-64[Article in Persian].
22. 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 base drugs. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 2017; 7(28): 49-60[Article in Persian].
23. Thigpen JT, Aghajanian CA, Alberts DS, Campos SM, Gordon AN, Markman M, et al. Role of pegylated liposomal doxorubicin in Ovarian cancer. *Gynecologic Oncology* 2005; 96(1): 10-8.



24. Paolino D, Cosco D, Muzzalupo R, Trapasso E, Picci N & Fresta M. Innovative bola-surfactant niosomes as topical delivery systems of 5-fluorouracil for the treatment of skin cancer. *International journal of Pharmaceutics* 2008; 353(1): 233-42.
25. Cosco D, Paolino D, Muzzalupo R, Celia C, Citraro R, Caponio D, et al. Novel PEG-coated niosomes based on bola-surfactant as drug carriers for 5-fluorouracil. *Biomedical Microdevices* 2009; 11(5): 1115-2.
26. Anbarasan B, Rekha S, Elango K, Shriya B & Ramaprabhu S. Optimization of the formulation and in-vitro evaluation of Capecitabine Niosomes for the treatment of Colon cancer. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2013; 4(4): 1504.
27. Tavano L, Muzzalupo R, Mauro L, Pellegrino M, Andò S & Picci N. Transferrin-conjugated pluronic niosomes as a new drug delivery system for anticancer therapy. *Langmuir* 2013; 29(41): 12638-46.
28. 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.
29. Yousefi Aldashi S, Akbarzadeh A & Heidarinasab A. Assess the in vitro efficacy of nanoparticles as carriers' magnetic liposomal paclitaxel on Ovarian cancer. *New Cellular & Molecular Biotechnology Journal* 2016; 6(24): 81-6[Article in Persian].
30. Ghanbari MA, Ebrahimi Shaham Abadi H, Saffari Z & Akbarzadeh Khiyavi A. Pegilated nanoliposome. *New Cellular & Molecular Biotechnology Journal* 2016; 6(21): 35-40[Article in Persian].
31. Kanaani L, Mazlumi 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.
32. 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 Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 2017; 7(27): 77-84[Article in Persian].
33. 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. *Royal Society of Chemistry Advances* 2017; 7(1): 30008-19.
34. Haghirsadat BF, Nadernezhad S, Amoabediny G, Montazeri F & Zandieh Doulabi B. Evaluation of the effects of surface charge on cytotoxicity of liposomal Doxorubicin on bone cancer cell line (Osteosarcoma). *Daneshvar Medicine* 2018; 25(133): 19-26[Article in Persian].

# Preparation and Study of Nano-Niosomes Containing Doxorubicin and Evaluation of its Toxicity on Acute Myeloblastic Leukemia Cell Line KG-1

Fatemeh Bahrami-Banan<sup>1</sup> (M.S.) - Mohammad Hasan Sheikhha<sup>2</sup> (Ph.D.) -  
Nasrin Ghasemi<sup>2</sup> (Ph.D.) - Mohammad Majdizadeh<sup>3</sup> (M.S.) - Bibi Fatemeh Haghirsadat<sup>4</sup> (Ph.D.)

1 Master of Science in Biotechnology, Genetics Department, Biotechnology Research Center, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran

2 Ph.D. in Genetics, Genetics Department, Biotechnology Research Center, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran

3 Master of Science in Cellular and Molecular Biology, Nano-Biotechnology Department, Nano-Biotech Foresight Company Biotechnology Campus, Science & Technology Park of Yazd, Yazd, Iran

4 Ph.D. in Nano-Biotechnology, Advanced Medical Sciences and Technologies Department, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

## Abstract

Received: Feb 2018

Accepted: Jun 2018

**Background and Aim:** One of the effective strategies for targeting chemotherapy in the treatment of cancer is the use of lipid nano-carriers. In this study, an optimal formulation of niosomal drug containing doxorubicin has been developed to better fight cancer cells.

**Material and Methods:** Niosomal vesicles were prepared using phosphatidylcholine (22%), span60 (52/5%), cholesterol (22/5%) and DSPE-PEG2000 (5%) by thin-film method. Then Doxorubicin was loaded into the niosomes. Their physico-chemical features were assayed using Zeta-Sizer, FTIR and SEM, and the amount of drug release was calculated at 37° C and 44° C. At the end, the toxicity of the nano drug carrier system was measured on the KG-1 cell line of the bone marrow cancer by MTT method.

**Results:** Niosomes containing Doxorubicin have a size of 160/37±2/65nm, the encapsulation efficiency of 94/18%, zeta potential of -58/11±1/24 mV and polydispersity index (PDI) of 0/234±0/02. The release of the drug is controlled in this nano-carrier and FTIR and SEM investigations showed that the drug and nano-carrier did not interact and their particles had a spherical structure. Also, cellular studies showed that drug toxicity was higher in encapsulated conditions compared to non-encapsulated conditions.

**Conclusion:** The results of this study, meanwhile confirming the proper physicochemical characteristics of the system and being a slow-release system indicate that this nano-carrier anionic increases the toxicity of the drug for the KG-1 cell line of the bone marrow, thus, this niosomal nano-carrier can be a suitable carrier for drug delivery to cancer cells.

**Keywords:** Niosome, Neoplasm, Doxorubicin, Bone Marrow, KG-1 Cell Line

\* Corresponding Author:  
Haghirsadat B F  
Email:  
fhaghirsadat@gmail.com