





Original Paper

Anticancer Activity of Copolymeric Nanoparticles Loaded by Plumbagin on Breast Cancer cells

Hossein Danafar (Ph.D)^{*1} , Ali Sharafi (Ph.D)² , Behrouz Parnianifar (Pharm.D)³

¹ Associate Professor, Zanjan Pharmaceutical Biotechnology Research Center, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran. ² Assistant Professor, Zanjan Pharmaceutical Biotechnology Research Center, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran. ³ Doctor of Pharmacy, Zanjan Pharmaceutical Biotechnology Research Center, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

Abstract

Background and Objective: In medical sciences, identifying the anticancer properties of plumbagin is of special importance. For this reason, this study investigated the anticancer activity of polymeric nanoparticles loaded by plumbagin against breast cancer cells.

Methods: In this descriptive study, the diblock copolymer mPEG–PCL was synthesized by ring-opening polymerization of caprolactone in the presence of mPEG as the initiator and Sn(oct)₂ as the catalyst. The synthesized copolymers were characterized by Fourier-transform infrared spectroscopy, proton nuclear magnetic resonance, gel permeation chromatography, and differential scanning calorimetry. The nanoprecipitation method was used for preparing nanoparticles loaded with plumbagin. The characteristics of these nanoparticles were investigated by various techniques including dynamic light scattering. The cytotoxicity of plumbagin, copolymer, and the nanoparticles loaded with plumbagin on MCF7 and HFF2 cells was evaluated by MTT assay.

Results: The average diameter of the nanoparticles was less than 115 nm. The loading capacity and encapsulation efficiencies were 15.4±0.13% and 79.1±0.65%, respectively. Drug release was slow, controlled, and almost dependent on pH. The results of the MTT assay showed strong and dose-dependent inhibition of cell growth by the plumbagin-loaded micelles compared with plumbagin alone in a way that the half maximal inhibitory concentration of this nanoparticle against MCF7 cells after 48 and 72 hours was 10.78 and 24.03 μM, respectively.

Conclusion: The mPEG-PCL nanoparticles can be an efficient carrier for plumbagin, and plumbagin can be an effective drug on breast cancer cells, without toxicity on healthy cells.

Keywords: Plumbagin, Cytotoxicity, Nanoparticles, diBlock copolymers

*Corresponding Author: Hossein Danafar (Ph.D), E-mail: danafar@zums.ac.ir

Received 8 Jun 2021

Final Revised 28 Aug 2021

Accepted 30 Aug 2021

Published Online 17 Oct 2022

Cite this article as: Danafar H, Sharafi A, Parnianifar B. [Anticancer Activity of Copolymeric Nanoparticles Loaded by Plumbagin on Breast Cancer cells]. J Gorgan Univ Med Sci. 2022; 24(2): 82-88. [Article in Persian]





تحقیقی

خواص ضدسرطانی نانوذرات پلیمری بارگذاری شده با پلامبازین بر روی سلول‌های سرطانی پستان

دکتر حسین دانافر^{۱*}، دکتر علی شرفی^۲، دکتر بهروز پرنیانی فرد^۳

^۱ دانشیار مرکز تحقیقات زیست فناوری دارویی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران. ^۲ استادیار مرکز تحقیقات زیست فناوری دارویی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران. ^۳ دکتری عمومی داروسازی، مرکز تحقیقات زیست فناوری دارویی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: در علوم پزشکی دانستن خواص ضدسرطانی پلامبازین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این مطالعه به منظور تعیین خواص ضدسرطانی نانوذرات پلیمری بارگذاری شده با پلامبازین بر روی سلول‌های سرطانی پستان انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی ابتدا کوپلیمرهای mPEG-PCL به روش پلیمریزاسیون حلقه گشایی سنتز شد. سپس از تکنیک‌های مختلفی همچون FT-IR، GPC، H¹NMR و DSC برای تایید سنتز موفقیت‌آمیز و تعیین ویژگی‌های آنها استفاده گردید. برای تهیه نانوذرات بارگذاری شده با پلامبازین از روش نانوترسیب استفاده شد. ویژگی‌های نانوذرات تهیه شده توسط تکنیک‌های مختلف از جمله DLS بررسی شد. سمیت سلولی پلامبازین، کوپلیمر و نانوذره بارگذاری شده با پلامبازین بر روی سلول‌های MCF7 و HFF2 با روش MTT بررسی گردید.

یافته‌ها: میانگین قطر نانوذرات کمتر از ۱۱۵ نانومتر بودند. بیشترین میزان بارگذاری دارو در نانوذره ۱۵/۴ درصد و میزان انکپسولاسیون ۷۹ درصد بود. رهش دارو آهسته و کنترل شده و تقریباً وابسته به pH بود. نتایج کشت سلولی پلامبازین روی رده سلولی سرطانی پستان نشان داد که نانوذرات این دارو نتایج خیلی بهتری نسبت به خود دارو در حالت آزاد دارند که میزان IC₅₀ این نانو ذره در سلول‌های MCF7 در ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت به ترتیب برابر با ۱۰/۷۸ و ۲۴/۰۳ میکرومولار بودند.

نتیجه‌گیری: نانوذرات mPEG-PCL می‌تواند یک حامل کارآمد برای پلامبازین باشد و داروی پلامبازین می‌تواند یک داروی موثر بر روی سلول‌های سرطانی پستان باشد که هیچگونه سمیتی بر روی سلول‌های سالم ندارد. واژه‌های کلیدی: پلامبازین، نانوذرات، کوپلیمرهای دوتایی، سمیت سلولی

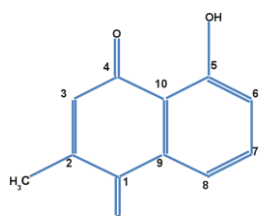
* نویسنده مسؤول: دکتر حسین دانافر، پست الکترونیکی danafar@zums.ac.ir

نشانی: زنجان، جاده گاوارنگ، جنب بیمارستان آیت اله موسوی، دانشکده داروسازی، تلفن ۰۰۲۴-۳۳۴۷۳۶۳۵-۳۳۴۷۳۶۳۹

وصول ۱۴۰۰/۱۳/۱۸ اصلاح نهایی ۱۴۰۰/۶/۱۶ پذیرش ۱۴۰۰/۶/۱۸ انتشار ۱۴۰۱/۷/۲۵

مقدمه

محدود است.^{۱،۹} بنابراین تمایل قابل توجهی در ایجاد سیستم‌های موثر تحویل دارو برای تامین کنترل رهش و همچنین حفظ ساختاری دارو وجود داشته است.



Plumbagin (5-hydroxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone)

شکل ۱: ساختار مولکولی پلامبازین

۵-هیدروکسی -۲-متیل-۱،۴-نفتو کینون که با نام پلامبازین شناخته می‌شود (شکل یک)؛ برای اولین بار در سال ۱۹۵۲ از گیاه دیوسپيروس هبکارپا، به‌عنوان اولین مشتق فعال از جنس دیوسپيروس جدا گردید.^۱ یک اثر قابل توجهی بر روی هر ۲ باکتری گرم مثبت و گرم منفی دارا است.^۲ دیگر فعالیت‌های این ماده اثرات ضدسرطان آن است. مطالعات متعددی وجود دارد که پلامبازین را به عنوان عامل سیتوتوکسیک قوی معرفی نموده‌اند.^۳ مطالعات زیادی فعالیت ضدسرطانی پلامبازین را گزارش کرده‌اند؛ با این وجود دیده شده پلامبازین برای سلول‌های نرمال سمیتی ندارد.^{۴-۸} با این حال، استفاده از پلامبازین به دلیل حلالیت کم در آب در شرایط اسیدی یا خنثی، میزان تجزیه زیاد در محیط قلیایی و تخریب در حلال‌های آلی

کوپلیمرهای متوکسی پلی (اتیلن گلیکول) - پلی (ε-کاپرولاکتون) (mPEG -PCL) که زیست سازگار و قابل

نمونه‌های مختلف با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی FT-IR (Tensor 27, Bruker) ثبت گردید. برای مطالعه رفتار حرارتی از آنالیز DSC استفاده شد. نمونه‌ها با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه حرارت داده شدند. اندازه‌گیری در محدوده ۲۵۰-۲۰۰ با استفاده از دستگاه (Mettler Toledo, Star SW 9.30) ساخت انگلیس انجام شد. جرم مولکولی میانگین و توزیع جرم مولکولی کوپلیمر توسط آنالیز ژل کروماتوگرافی بررسی گردید. نمونه در داخل تتراهیدروفوران کاملاً خالص حل شد و پس از تزریق به ستون و مقایسه با نمودار کالیبراسیونی که با استفاده از پلی استایرن‌های استاندارد با جرم مولکولی ۲۹۰۰۰-۴۵۰۰۰ g/mol رسم شده، جرم مولکولی و پلی دیسپرسیته کوپلیمر سنتز شده محاسبه گردید. برای انجام آنالیز GPC از دستگاه Knaure ساخت آلمان با دتکتور ضریب شکست با یک ستون با مشخصات (4.6*30 mm) و فاز متحرکی که شامل تتراهیدروفوران بود؛ استفاده گردید.

تهیه نانوذرات بارگذاری شده با پلامبازین از کوپلیمر mPEG-PCL: نانوذرات بارگذاری شده با پلامبازین به روش نانوترسیب تهیه شدند. بدین صورت که مقادیر وزنی ۶ میلی‌گرم از پلامبازین و ۲۰ میلی‌گرم از کوپلیمر را برداشته و در ۲ میلی‌لیتر استون حل کرده و توسط پمپ سرنگی قطره قطره به ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه که توسط همزن مغناطیسی در حال همزدن شدید بود؛ اضافه گردید و این هم زدن به مدت ۵-۶ ساعت در دمای اتاق تا تبخیر کامل حلال آلی ادامه یافت. بعد از این مرحله محلول ۲-۳ دقیقه سونیکه شد. سپس نمونه‌ها سانتریفیوژ در حدود ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ و خشک شدند.

بررسی ویژگی‌های نانو ذرات mPEG-PCL: محاسبه اندازه و بار سطحی نانوذرات با استفاده از تکنیک روش تفرق نور پویا (DLS) انجام شد. روش تفرق دینامیک نور (DLS) که گاهی طیف سنجی ارتباط فوتونی (PCS) نیز نامیده می‌شود؛ برای تعیین توزیع اندازه ذرات در محیط مایع مورد استفاده قرار می‌گیرد. دستگاه DLS (Zeta-sizer) با استفاده از تابش نور مرئی به نمونه مثل توزیع اندازه، پتانسیل زتا را محاسبه می‌کند.

بررسی پایداری نانوذرات: برای ارزیابی پایداری نانوذرات بعد از تهیه آنها در طول مدت زمان‌های بلافاصله پس از تهیه، ۱، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۶ هفته پس از تهیه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و از تغییر اندازه نانوذرات برای تحلیل پایداری آنها استفاده شد.

راندمان بارگذاری دارو در نانوذرات: راندمان بارگذاری و راندمان انکپسوله شدن داروی پلامبازین در نانوذرات با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

Drug loading content (%) = Weight of drug in nanoparticle / weight of nanoparticle * 100
Encapsulation efficiency (%) = Weight of drug nanoparticle / Weight of feed drug * 100

بازیافت هستند؛ در سیستم‌های انتقال دارو کاربردهای مفیدی از خود نشان داده‌اند.^{۱۲،۱۱} این کوپلیمرها غیرسمی بوده و در داخل بدن جمع نمی‌شوند. زیرا محصولات تخریب‌پذیر بلوک کوپلیمر mPEG-PCL می‌توانند وارد چرخه اسید کربوکسیلیک شده یا از طریق کلیه از بین بروند. این کوپلیمرها می‌توانند بارگذاری دارو را افزایش دهند؛ اثر انفجار را کاهش دهند؛ مدت زمان اقامت داروها را طولانی‌تر کنند؛ از درگیر شدن توسط ماکروفاژها جلوگیری کنند؛ آب دوستی و سرعت تخریب تبلور را بهبود بخشند و پتانسیل زیادی برای توسعه در تحویل دارو نشان دهند.^{۱۳}

mPEG-PCL یک کوپلیمر دو تایی است که به صورت نانوذرات با ساختار هسته و پوسته می‌تواند تشکیل دهد که شامل یک هسته PCL آبگریز و یک پوسته PEG آب دوست است.^{۱۴،۱۵} این مطالعه به منظور تعیین خواص ضدسرطانی نانوذرات پلیمری بارگذاری شده با پلامبازین بر روی سلول‌های سرطانی پستان انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی در دانشکده داروسازی گروه نانوفناوری دارویی دانشگاه علوم پزشکی زنجان طی سالهای ۹۶-۱۳۹۵ انجام شد. مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی زنجان (ZUMS.REC.1394.225) قرار گرفت.

سنتز کوپلیمر دو تایی mPEG-PCL: کوپلیمر دو تایی mPEG-PCL از طریق پلیمریزاسیون حلقه گشایی کاپرولاکتون در حضور پلی اتیلن گلیکول به عنوان مولکول آغازگر و کاتالیست اکتانات قلع (با نسبت مولی ۱ به ۲ از اتیلن گلیکول به کاپرولاکتون) سنتز گردید. بدین صورت که مقدار ۳g از mPEG با جرم مولکولی ۵۰۰۰ g/mol در داخل یک بالن دو دهانه وارد کرده و تحت خلاء و دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه خشک نموده؛ سپس نیتروژن را به داخل بالن حاوی mPEG که تحت همزدن مغناطیسی بود؛ وارد کرده و دمای آن در حمام روغن به ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. در ادامه ۶g از مونومر کاپرولاکتون به ظرف واکنش اضافه شد و بعد از ذوب شدن کامل کاپرولاکتون، کاتالیست به اندازه ۱۰۰ μL به آن افزوده و اجازه داده شد تا واکنش در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت پیش رود. سپس سیستم را سرد کرده و کوپلیمر را داخل کلروفرم حل نموده و در داخل دی اتیل اتر سرد رسوب داده شد. رسوب حاصله توسط کاغذ صافی جمع‌آوری و خشک گردید.

آنالیز کوپلیمر دو تایی mPEG-PCL: برای تعیین ساختار کوپلیمر دو تایی mPEG-PCL از دستگاه 1H NMR استفاده شد. طیف‌های NMR با دستگاه Bruker 400MHz در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرفته شدند. کلروفرم دوتره (CDCL₃) به عنوان حلال و تری میتیل سیلان (TMS) به عنوان استاندارد داخلی به کار برده شده‌اند. برای تایید تشکیل این کوپلیمر از طیف FT-IR استفاده شد. طیف FT-IR

جدول ۱: خصوصیات کopolymer دوتایی سنتز شده					
Copolymer	Mwa(Da)	Tm (°C) ^b	CA / EG feed	DPPEG	DPPCL
mPEG-PCL	۱۱۱۰۰	۵۱/۳۲	۲	۱۱۳/۶۳	۶۳/۳۴

a Determined by GPC analysis using narrow molecular weight polystyrene standards.
b Calculated from the first run of DSC

۵ روز به هر خانه حاوی محیط کشت ۲۵ μL از محلول MTT افزوده شد. سپس پلیت به مدت ۳ تا ۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس محیط کشت را خالی نموده و به هر خانه ۱۰۰ μL از محلول DMSO اضافه گردید. سپس جذب کریستال‌های بنفش رنگ حل شده فورمازان توسط دستگاه Tecan مدل Plate Reader در طول موج ۵۷۰nm در مقابل ۶۳۰nm خوانده شد. با استفاده از نتایج به دست آمده میزان IC50 برای کopolymerها محاسبه گردید که این بیانگر سمیت سلولی ترکیب بود.

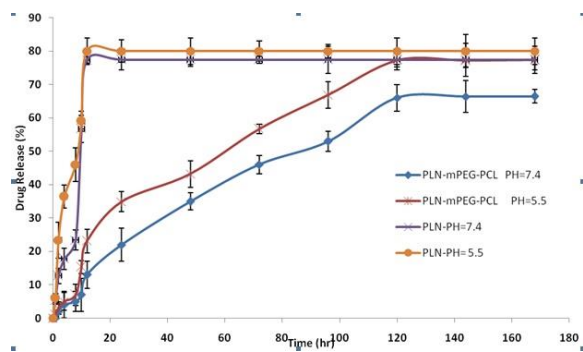
یافته‌ها

بررسی ویژگی‌های کopolymer دوتایی: کopolymer دوتایی با نسبت کاپرولاکتون به پلی‌اتیلن گلیکول توسط پلیمریزاسیون حلقه باز کاپرولاکتون در حضور PEG و با کاتالیست $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ ، در شرایطی که گروه‌های هیدروکسیل PEG آغازگر واکنش هستند؛ سنتز شدند. میزان راندمان کopolymer دوتایی تشکیل شده ۷۸ درصد بود. ساختار و ترکیب کopolymer سنتز شده توسط $^1\text{H-NMR}$ در حلال CDCl_3 تعیین شد. در طیف $^1\text{H-NMR}$ کopolymer mPEG-PCL وجود پیک در ناحیه ppm ۳/۳۹ و ppm ۳/۶۵۸ مربوط به هیدروژن‌های گروه متوکسی و هیدروژن‌های گروه‌های متیلن PEG بود. پیک ppm ۱/۴۳۲، ppm ۱/۶۵۷، ppm ۲/۳۳۲ و ppm ۴/۰۷۲ به ترتیب مربوط به هیدروژن‌های کاپرولاکتون بودند. در طیف FT-IR مربوط به کopolymer mPEG-PCL نوار جذبی در فرکانس 1109 cm^{-1} مربوط به پیوندهای کششی (C-O) بودند. نوار جذبی تیز و شدیدی که در فرکانس 1728 cm^{-1} مشاهده شد؛ وجود گروه‌های استری کربونیل (C=O) را تایید نمود که نشان دهنده تشکیل کopolymer mPEG-PCL بود. هیدروژن‌های متیلن (-CH₂-) جذب C-H کششی می‌دهند که در فرکانس 2881 cm^{-1} دیده شد.

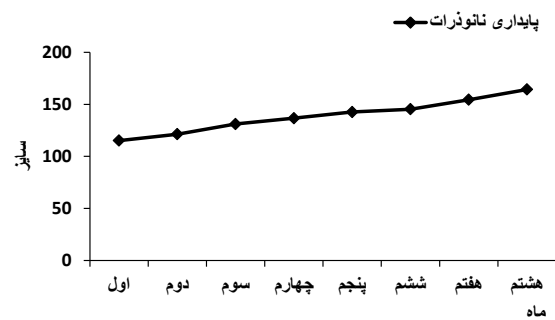
مطالعات قبلی از آنالیزهای DSC نشان داده هم‌پولیمیرهای PEG و

مطالعه رهش داروی پلامبازین در شرایط برون تنی در محیط‌های مختلف: از نانوذره حاوی دارو سه بار و هر دفعه ۵ میلی‌گرم در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH ۷/۴ حل شد. سپس داخل کیسه دیالیز (cut off 12000) ریخته شد و در داخل یک ظرف حاوی ۱۳ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH ۷/۴ قرار داده شد. به طوری که داخل بافر فسفات به میزان یک درصد ۷/۷ توئین ۸۰ اضافه شد. ظرف‌های محتوی کیسه دیالیز در دستگاه شیکرانکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و در زمان‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲، ۱۴۴ و ۱۶۸ ساعت بعد از قرار دادن در دستگاه شیکرانکوباتور، مقدار یک میلی‌لیتر از بافر داخل ظرف خارج و در میکروتیوپ نگهداری شد. مجدداً یک میلی‌لیتر بافر تازه به جای آن جایگزین شد. همه مراحل برای هر نانو ذره و در دو pH اسیدی ۷/۴ و pH بازی ۵/۵ انجام شد. در نهایت جذب نمونه‌های داخل میکروتیوپ‌ها توسط دستگاه اسپکتروسکوپی UV در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. هر یک از اندازه‌گیری‌ها سه مرتبه تکرار گردید و میانگین این سه داده برای محاسبه غلظت داروی آزاد شده استفاده شد. نتایج اندازه‌گیری به صورت مقدار داروی آزاد برای دوره زمانی ۱۶۸ ساعت رسم گردید.

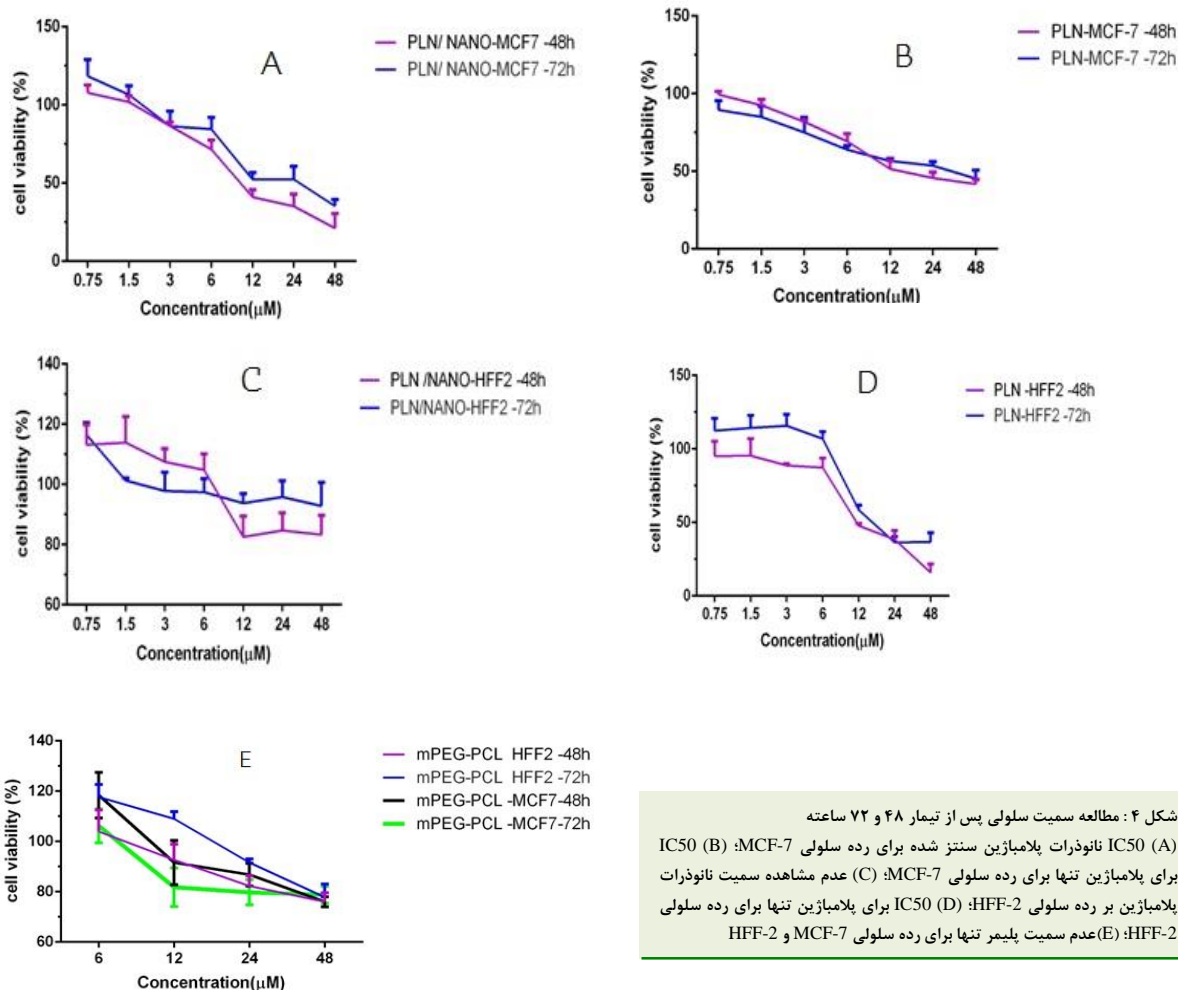
تعیین سمیت سلولی نانوذرات بر روی سلول‌های رده‌های سلول MCF-7 و HFF-2 به وسیله MTT: هنگامی که سلول‌های موجود در ظرف کشت حدود ۸۰ درصد سطح ظرف را پوشاندند؛ تریسینه شده و سوسپانسیون سلولی حاصله بعد از شمارش سلولی به روش تریپان بلویه تعداد ۱۰۰۰ سلول با حجم نهایی ۱۰۰ μL در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه برای ۷ غلظت دارویی و برای هر غلظت ۵ خانه کاشته شد. بعد از حدود ۲۴ ساعت از کشت سلول‌های مورد نظر تعویض محیط کشت با محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف کopolymerهای دوتایی (در محدوده ۰/۱ تا ۸۰ μM) انجام گرفت. بعد از



شکل ۳: رهش داروی پلامبازین در محیط‌های مختلف



شکل ۴: نمودار پایداری نانو ذرات در زمان‌های مختلف



شکل ۴: مطالعه سمیت سلولی پس از تیمار ۴۸ و ۷۲ ساعته
 (A) IC50 نانوذرات پلامبازین سنتز شده برای رده سلولی MCF-7; (B) IC50 برای پلامبازین تنها برای رده سلولی MCF-7; (C) عدم مشاهده سمیت نانوذرات پلامبازین بر رده سلولی HFF-2; (D) IC50 برای پلامبازین تنها برای رده سلولی HFF-2; (E) عدم سمیت پلیمر تنها برای رده سلولی MCF-7 و HFF-2

شکل ۲ نشان داده شده است. به طوری که اندازه نانوذرات در طول ۹ ماه تغییر زیادی نکرد و نانوذرات پایدار بودند.

پرسی میزان بارگذاری دارو در کوپلیمر: میزان بارگذاری و انکسولاسیون داروی پلامبازین در نانوذرات محاسبه گردید و به ترتیب برابر با ۱۵/۴ درصد و ۷۹ درصد تعیین شد.

مطالعه رهش دارو برای نانوذرات در شرایط برون تنی در بافر بازی و اسیدی: رهش داروی پلامبازین در دو محیط بافری PBS با pH اسیدی و بازی ۷/۴ و ۵/۵ بررسی شد.

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در هر دو محیط رهش پلامبازین از نانوذره آهسته بوده که ماکزیم رهش در محیط بازی بعد از ۷۲ ساعت به ۴۶±۱/۹ درصد رسید و در محیط اسیدی بعد از گذشت همین ساعت ۵۶/۷±۳ درصد رسید؛ اما پلامبازین آزاد خیلی سریع آزاد شد؛ به طوری که ماکزیم رهش آن در محیط بازی در حدود ۱۲ ساعت به ۷۷/۳۳±۲ درصد و در محیط اسیدی بعد از همین مقدار ساعت به ۸۰±۳ درصد رسید. به طور کلی در محیط اسیدی مقدار بیشتری پلامبازین آزاد شد. به طوری که پیوندهای استری کاپرولاکتون در محیط اسیدی شکست و دارو بیشتر آزاد شد.

PCL که هر دو جزء پلیمرهای نیمه بلوری محسوب می‌شوند؛ به ترتیب دارای نقطه ذوب ۶۲ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد هستند. با این وصف در طیف DSC کوپلیمر سنتزی رویداد حرارتی متعلق به دمای ذوب PEG و PCL بود. آنالیز GPC متوسط جرم مولکولی وزنی و متوسط جرم مولکولی عددی به ترتیب مقادیری برابر با ۱۲/۲۳ و ۱۱/۱۰ KDa را نشان دادند و مقدار پلی دیسپرسیته به دست آمده ۱/۱۰ بود. خصوصیات کوپلیمر دوتایی سنتز شده در جدول یک آمده است.

تعیین اندازه و بار نانوذرات با DLS: اندازه نانوذرات اندازه‌گیری شده با دستگاه DLS برابر با ۱۱۵/۲ نانومتر و همچنین میزان بار ذرات در بررسی زتای اندازه‌گیری شده ۲۱/۶- به دست آمدند.

پرسی پایداری فیزیکی سوسپانسیون نانوذرات: در کاربردهای پزشکی سوسپانسیون‌های نانوذرات امکان انسداد رگ‌ها در اثر بهم چسبیدن نانوذرات وجود دارد که این امر اهمیت ارزیابی پایداری نانوذرات را در محیط‌های بیولوژیکی می‌رساند. بدین منظور از تغییر اندازه سوسپانسیون نانوذرات تهیه شده که به مدت زمان ۹ ماه در دمای اتاق نگه داشته شده بودند؛ استفاده شد و نتایج اندازه‌گیری در

زیست سازگار و دارای سمیت سلولی کم است.^{۱۶} مطالعه ما نشان داد که این نانوذرات یک سیستم زیست سازگار و مناسب برای تحویل پلامپاژین به سلول‌های سرطانی پستان فراهم می‌کنند. به طور کلی نتایج این تحقیق داده‌های ارزشمندی را برای توسعه حامل جدید برای تحویل پلامپاژین با دوز پایین‌تر دارو فراهم می‌کند تا عوارض جانبی سیستمیک دارو کاهش یابد. همچنین این سیستم تحویل دارویی نانو می‌تواند به عنوان یک پایه امیدوار کننده برای طراحی سیستم‌های میسل بیشتر برای بهبود اثر درمانی پلامپاژین استفاده شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات mPEG-PCL می‌تواند یک حامل کارآمد برای پلامپاژین باشد و داروی پلامپاژین می‌تواند یک داروی موثر بر روی سلول‌های سرطانی پستان باشد که هیچگونه سمیتی بر روی سلول‌های سالم ندارد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاصل پایان‌نامه آقای دکتر بهروز پرنیانی فرد برای اخذ دکتری حرفه‌ای در رشته داروسازی عمومی (شماره ۱۶۳) از دانشگاه علوم پزشکی زنجان بود. بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی زنجان تشکر می‌گردد. همچنین اعلام می‌گردد که بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

- Bhattacharya A, Jindal B, Singh P, Datta A, Panda D. Plumbagin inhibits cytokinesis in *Bacillus subtilis* by inhibiting FtsZ assembly--a mechanistic study of its antibacterial activity. *FEBS J.* 2013 Sep; 280(18): 4585-99. DOI: 10.1111/febs.12429
- Jamal MS, Parveen S, Beg MA, Suhail M, Chaudhary AG, Damanhoury GA, et al. Anticancer compound plumbagin and its molecular targets: a structural insight into the inhibitory mechanisms using computational approaches. *PLoS One.* 2014 Feb; 9(2): e87309. DOI: 10.1371/journal.pone.0087309
- Hafeez BB, Zhong W, Fischer JW, Mustafa A, Shi X, Meske L, Hong H, et al. Plumbagin, a medicinal plant (*Plumbago zeylanica*)-derived 1,4-naphthoquinone, inhibits growth and metastasis of human prostate cancer PC-3M-luciferase cells in an orthotopic xenograft mouse model. *Mol Oncol.* 2013 Jun; 7(3): 428-39. DOI: 10.1016/j.molonc.2012.12.001
- Chen CA, Chang HH, Kao CY, Tsai TH, Chen YJ. Plumbagin, isolated from *Plumbago zeylanica*, induces cell death through apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Pancreatol.* 2009; 9(6): 797-809. DOI: 10.1159/000210028
- Demma J, Hallberg K, Hellman B. Genotoxicity of plumbagin and its effects on catechol and NQNO-induced DNA damage in mouse lymphoma cells. *Toxicol In Vitro.* 2009 Mar; 23(2): 266-71. DOI: 10.1016/j.tiv.2008.12.007
- Jackson JK, Higo T, Hunter WL, Burt HM. Topoisomerase inhibitors as anti-arthritis agents. *Inflamm Res.* 2008 Mar; 57(3): 126-34. DOI: 10.1007/s00011-007-7163-6
- Srinivas P, Gopinath G, Banerji A, Dinakar A, Srinivas G. Plumbagin induces reactive oxygen species, which mediate apoptosis in human cervical cancer cells. *Mol Carcinog.* 2004 Aug; 40(4): 201-11. DOI: 10.1002/mc.20031

پروسی اثر سمیت نانوذرات سنتز شده بر رده‌های سلولی MCF-7 و HFF-2: نتایج حاصل از مطالعات سمیت سلولی ناشی از نانوذرات سنتز شده بر دو رده سلولی MCF-7 و HFF-2 در شکل ۴ نشان داده شده است. IC50 نانوذرات پلامپاژین سنتز شده (A) برای رده سلولی MCF-7 در ۴۸ ساعت ۱۰/۷۸ میکرومولار و در ۷۲ ساعت به ۲۴/۰۳ میکرومولار افزایش یافت. IC50 برای پلامپاژین تنها (B) برای رده سلولی MCF-7 در ۴۸ ساعت به ۳۸/۷۸ میکرومولار و در ۷۲ ساعت به ۴۸ میکرومولار افزایش یافت. در غلظت‌های انجام شده برای نانوذرات پلامپاژین روی رده سلولی (C) HFF-2 هیچ اثر سمیتی دیده نشد. پلامپاژین تنها در غلظت‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ میکرومولار برای رده سلولی (D) HFF-2 همراه با سمیت بود. پلیمر تنها (E) در هیچیک از رده‌های سلولی و هیچیک از زمان‌های ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت سمیت نداشت.

بحث

در این مطالعه، کوپلیمر mPEG-PCL زیست تخریب پذیر سنتز شد و از تکنیک‌های مختلفی مانند GPC، NMR، FT-IR و DSC برای شناسایی آن استفاده گردید و نانوذرات بارگذاری شده با پلامپاژین با روش نانوترسیب ساخته شدند. داده‌ها نشان داد که میزان انکپسولاسیون داروی ما در حدود ۷۹ درصد بوده که نسبت به کارهای مشابه خیلی بیشتر است.^{۱۷،۱۶} مطالعه سمیت سلولی در شرایط آزمایشگاهی در مقایسه با کارهای قبلی نشان داد که نانوذرات

- Thasni KA, Rakesh S, Rojini G, Ratheeshkumar T, Srinivas G, Priya S. Estrogen-dependent cell signaling and apoptosis in BRCA1-blocked BGI ovarian cancer cells in response to plumbagin and other chemotherapeutic agents. *Ann Oncol.* 2008 Apr; 19(4): 696-705. DOI: 10.1093/annonc/mdm557
- Reis CP, Neufeld RJ, Ribeiro AJ, Veiga F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine.* 2006 Mar; 2(1): 8-21. DOI: 10.1016/j.nano.2005.12.003
- Thakkar KN, Mhatre SS, Parikh RY. Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* 2010; 6(2): 257-62. DOI: 10.1016/j.nano.2009.07.002
- Wei X, Gong C, Gou M, Fu S, Guo Q, Shi S, et al. Biodegradable poly(epsilon-caprolactone)-poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery system. *Int J Pharm.* 2009 Oct; 381(1): 1-18. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2009.07.033
- Shi HS, Gao X, Li D, Zhang QW, Wang YS, Zheng Y, et al. A systemic administration of liposomal curcumin inhibits radiation pneumonitis and sensitizes lung carcinoma to radiation. *Int J Nanomedicine.* 2012; 7: 2601-11. DOI: 10.2147/IJN.S31439
- Men K, Gou ML, Guo QF, Wang XH, Shi S, Kan B, et al. A novel drug and gene co-delivery system based on Poly(epsilon-caprolactone)-Poly(ethylene glycol)-Poly(epsilon-caprolactone) grafted polyethyleneimine micelle. *J Nanosci Nanotechnol.* 2010 Dec; 10(12): 7958-64. DOI: 10.1166/jnn.2010.2668
- Gou M, Wei X, Men K, Wang B, Luo F, Zhao X, et al. PCL/PEG copolymeric nanoparticles: potential nanoplatforams for anticancer agent delivery. *Curr Drug Targets.* 2011 Jul; 12(8): 1131-50. DOI: 10.2174/138945011795906642

15. Appadurai P, Rathinasamy K. Plumbagin-silver nanoparticle formulations enhance the cellular uptake of plumbagin and its antiproliferative activities. *IET Nanobiotechnol.* 2015 Oct; 9(5): 264-72. DOI: 10.1049/iet-nbt.2015.0008
16. Pan M, Li W, Yang J, Li Z, Zhao J, Xiao Y, et al. Plumbagin-loaded aptamer-targeted poly D,L-lactic-co-glycolic acid-b-polyethylene glycol nanoparticles for prostate cancer therapy. *Medicine (Baltimore).* 2017 Jul; 96(30): e7405. DOI: 10.1097/MD.00000000000007405
17. Chrastina A, Baron VT, Abedinpour P, Rondeau G, Welsh J, Borgström P. Plumbagin-Loaded Nanoemulsion Drug Delivery Formulation and Evaluation of Antiproliferative Effect on Prostate Cancer Cells. *Biomed Res Int.* 2018 Nov; 2018: 9035452. DOI: 10.1155/2018/9035452