

تهیه و مشخصه‌یابی سامانه‌ی دارورسانی نانوذرات کیتوزان حاوی داروی دوکسوروبیسین جهت استفاده در درمان سرطان سینه

صدیقه واعظی فر^۱، محمد مولایی^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سامانه‌های دارورسانی حاوی داروهای ضد سرطان، مزایای بسیاری در رهایش دارو نسبت به داروهای خوراکی یا تزریقی در درمان سرطان دارند. بنابراین، ساخت سامانه‌هایی برای تحویل کنترل شده‌ی داروهای ضد سرطان در سال‌های اخیر، توجه زیادی را به خود جلب کرده است.

روش‌ها: در این تحقیق، نانوذرات کیتوزان (Chitosan-based nanoparticles یا CsNPs) به روش ژل شدن یونی تهیه شد و به عنوان حامل داروی دوکسوروبیسین (Doxorubicin یا DOX) مورد استفاده قرار گرفت. نانوذرات کیتوزان، قبل و بعد از بارگذاری دارو با استفاده از روش‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM یا Scanning electron microscope)، پراکندگی نور پویا (DLS یا Dynamic light scattering) و پتانسیل زتا مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج آزمون‌های برون تن (In vitro) انجام شده بر روی این سیستم از نظر میزان رهایش دارو نشان داد نمونه‌ی ساخته شده گزینه‌ی بسیار مناسبی به عنوان حامل داروی ضد سرطان DOX است؛ چرا که با رهایش کنترل شده‌ی دارو در بازه‌ی زمانی (از ۱۲۰-۰ ساعت) به صورت رهایش آهسته و پیوسته، می‌تواند در مقابله با سلول‌های سرطانی مؤثرتر عمل کند.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این مطالعه، استفاده از سامانه‌ی دارورسانی CsNPs/DOX می‌تواند جایگزین ممتازی به جای استفاده از دزهای متعدد تزریق دوکسوروبیسین برای درمان سرطان سینه باشد و محدودیت‌های مربوط به استفاده از این دارو به شیوه‌ی شیمی‌درمانی را مرتفع نماید.

واژگان کلیدی: نانوذرات کیتوزان، داروی ضد سرطان، دوکسوروبیسین، رهایش دارو، سرطان سینه

ارجاع: واعظی فر صدیقه، مولایی محمد. تهیه و مشخصه‌یابی سامانه‌ی دارورسانی نانوذرات کیتوزان حاوی داروی دوکسوروبیسین جهت استفاده در درمان سرطان سینه. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۴۱): ۱۰۵۳-۱۰۴۷

مقدمه

سرطان در نتیجه‌ی انباشته شدن جهش‌های پیکری در سلول‌های بدن ایجاد می‌شود. سلول‌های جهش یافته، نسبت به سلول‌های سالم بدن دارای برتری‌های رقابتی هستند. سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان در میان زنان است و در هر سال، بیش از یک میلیون مورد جدید از این سرطان تشخیص داده می‌شود (۱). طی فرایند سرطانی شدن، سلول‌های بدخیم به صورت بی‌رویه رشد و تکثیر و به بافت‌های اطراف حمله می‌کنند و مرحله‌ی تهاجم و متاستاز اتفاق می‌افتد. متاستاز، عامل اصلی مرگ و میر بیماران مبتلا به سرطان است (۲). متاستاز، با انتقال سلول‌های سرطانی به گره‌های لنفاوی، مغز استخوان، ریه و کبد مشخص می‌شود (۳). با وجود پیشرفت‌های به دست آمده

در درمان سرطان، پیش‌آگهی بیماران دچار متاستاز هنوز ضعیف می‌باشد و رضایت‌بخش نیست (۴).

یکی از رایج‌ترین و مفیدترین داروهای شیمی‌درمانی در درمان سرطان، داروی دوکسوروبیسین (Doxorubicin یا DOX) است. مطالعات متعددی اثربخشی بالای این دارو را در محیط برون‌تنی و درون‌تنی تأیید نموده‌اند (۵). دوکسوروبیسین، عمل مهارت خود را از طریق برهم‌کنش با DNA، تأثیر بر روی نسخه‌برداری و ترجمه و نیز تشکیل کمپلکس سه جزئی با DNA توپومراز II اعمال می‌کند (۶).

عوارض جانبی داروهای شیمی‌درمانی، می‌تواند نتایج درمان را به طور قابل توجهی کاهش دهد و مصرف آن‌ها را محدود کند. هدف از توسعه‌ی سیستم‌های نوین دارورسانی، رهایش کنترل شده‌ی دارو،

۱- استادیار، گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- دانشجو، گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: صدیقه واعظی فر

این تحقیق، با آن روش‌ها متفاوت بود که در بخش مربوط توضیح داده خواهد شد.

کیتوزان، به عنوان یک عامل ضد سرطان، نقش حامل را برای تحویل دوکسوروبیسین به تومور بازی می‌کند. نتایج آزمون‌های برون‌تن (In vitro) انجام شده بر روی این سیستم، از نظر میزان رهایش دارو نشان داد، نمونه‌ی ساخته شده گزینه‌ی بسیار مناسبی به عنوان حامل داروی ضد سرطان DOX می‌باشد و به دلیل رهایش آهسته‌ی دارو در بازه‌ی زمانی مشخص، می‌تواند در مقابله با سلول‌های سرطانی مؤثرتر عمل نماید.

روش‌ها

مواد: کیتوزان محلول در اسید استیک (با درجه‌ی $\text{Deacetylation} > 85$) از شرکت Sigma Aldrich خریداری شد. تری‌پلی فسفات سدیم، اسید استیک و سایر واکنشگرها از شرکت Merck و داروی دوکسوروبیسین از شرکت Cipla (Pharmaceutical, Mumbai, India) خریداری شد.

تهیه‌ی نانوذرات کیتوزان: در مطالعه‌ی حاضر از روش ژل شدن یونی جهت تهیه‌ی نانوذرات کیتوزان استفاده شد. در این روش، از برهم‌کنش بین گروه‌های تری‌پلی فسفات با بار منفی با گروه‌های آمینی کیتوزان با بار مثبت، نانوذرات کیتوزان تهیه شد. جهت تهیه‌ی نانوذرات کیتوزان به این روش، محلول کیتوزان با غلظت ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در اسید استیک ۱ درصد وزنی - حجمی تهیه شد. هم‌زدن این محلول در دمای اتاق تا رسیدن به محلولی بسیار شفاف و فاقد هر گونه ذره‌ی حل نشده با هم‌زدن مغناطیسی ادامه یافت. محلول تری‌پلی فسفات نیز با غلظت ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در آب مقطر تهیه شد. جهت انجام واکنش، حجم مورد نیاز از محلول تری‌پلی فسفات به حجم مشخصی از محلول کیتوزان افزوده شد. نقطه‌ی ظهور کدورت و غیر شفاف شدن محلول واکنش بر اساس اثر تیندال با استفاده از نور لیزر به‌طور چشمی تعیین شد. مدت زمان واکنش ۶۰ دقیقه انتخاب شد. پس از کامل شدن واکنش و به منظور جداسازی نانوذرات، سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰۰ دور/دقیقه سانتریفیوژ شد. به منظور حذف ناخالصی‌ها از این رسوب، نمونه با آب دوبار تقطیر شستشو داده و بار دیگر سانتریفیوژ گردید. سپس، پودر نانوذرات حاصل شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک شد و در مراحل بعد مورد استفاده قرار گرفت (۱۹).

بارگذاری داروی دوکسوروبیسین بر روی نانوذرات کیتوزان:

نانوذرات کیتوزان حامل داروی دوکسوروبیسین، با افزودن محلول آبی دکسوروبیسین هیدروکلراید (۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به نانوذرات کیتوزان

حفظ غلظت دارو در محدوده‌ی درمانی برای مدت زمان مناسب و همچنین، انتقال اختصاصی دارو به بافت هدف است. بسیاری از مطالعات، بر افزایش اثربخشی درمانی داروهای ضد سرطان از طریق داروسازی اختصاصی به تومور متمرکز شده‌اند (۷). به دلیل این که داروهای ضد سرطان تمایل به پراکنده شدن در تمام بدن و از بین بردن کلیه‌ی سلول‌ها را دارند، شیمی‌درمانی سنتی ممکن است در بعضی موارد موفق نباشد. هدف قرار دادن سلول‌های سرطانی با استفاده از نانوذرات بارگذاری شده با عوامل ضد سرطان، روش امیدوارکننده‌ای است (۸). سیستم‌های داروسازی بر پایه‌ی نانوذرات با قابلیت نفوذ بهتر ذرات در داخل سلول‌های بدن، بسته به اندازه‌ی آن‌ها، اجازه‌ی تحویل دارو از طریق تزریق وریدی، کاشت زیر جلدی یا راه‌های دیگر را فراهم می‌کند (۹). تحویل دارو با اندازه‌ی ذرات کوچک اجازه‌ی انحلال سریع‌تر در جریان خون را می‌دهد و منجر به تحویل هدفمند دارو در یک سلول یا بافت خاص می‌شود (۱۰).

کیتوزان، به دلیل وجود گروه‌های آمینی با بار مثبت دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی نظیر قابلیت زیستی، غیر سمی بودن و سازگاری با سلول‌ها و بافت‌ها است (۱۱). یکی از کاربردهای ویژه‌ی کیتوزان، کاربرد آن در داروسازی هدفمند به عنوان حامل دارو می‌باشد. در این کاربرد، استفاده از کیتوزان به شکل نانوذره، تأثیر چشم‌گیرتری دارد و به‌طور مؤثرتری عمل می‌کند. استفاده از کیتوزان به صورت نانوذره، منجر به افزایش مساحت سطح کیتوزان می‌شود و سطح تماس مؤثر را افزایش می‌دهد و از طرفی، باعث نفوذ راحت‌تر به بافت هدف می‌شود. نانوذرات کیتوزان حامل داروی ضد سرطان توجه بسیاری از دانشمندان جهان را به خود جلب کرده‌اند. استفاده از نانوذرات کیتوزان به عنوان حامل داروهای شیمی‌درمانی، نه تنها درمان توده‌ی توموری را بهبود می‌بخشد، بلکه عوارض جانبی را نیز کاهش می‌دهد (۱۲-۱۳).

درازدت بودن درمان‌های مبتنی بر شیمی‌درمانی، می‌تواند به میزان قابل توجهی موجب نارضایتی بیماران شود (۱۴). از این رو، نانوذرات حامل داروهای شیمی‌درمانی، می‌توانند با حذف دز و تزریق روزانه و نگهداری غلظت دارو در حالت پایدار، منجر به آرامش و راحتی بیمار شوند و تأثیر قابل ملاحظه‌تری داشته باشند (۱۵). در مطالعه‌ی حاضر، نانوذرات کیتوزان حامل دوکسوروبیسین Chitosan-based nanoparticles/DOX (CsNPs/DOX) تهیه و مشخصه‌یابی شد. تهیه‌ی این سامانه به روشی که در این مقاله مطرح می‌شود، برای اولین بار گزارش شده است.

در مطالعات گذشته نیز محققانی به تهیه‌ی سامانه‌ی نانوذرات کیتوزان حاوی داروی دوکسوروبیسین پرداخته بودند (۱۶-۱۸)، اما روش تهیه‌ی نانوذرات و روش مورد استفاده در بارگذاری دارو در

در فواصل زمانی از پیش تعیین شده اندازه‌گیری گردید. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بر اساس سه بار تکرار در اندازه‌گیری ارائه شده‌اند.

تجزیه و تحلیل‌های آماری: در این تحقیق، جهت تجزیه و تحلیل‌های آماری نتایج به دست آمده، از آزمون One-way ANOVA در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۷ (version 17, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد گزارش گردید.

یافته‌ها

مشخصه یابی نانوذرات کیتوزان حامل دوکسوروبیسین: مقدار داروی بارگذاری شده و راندمان کپسوله شدن دارو در سامانه مطابق با معادلات (۱) و (۲) به ترتیب $2/5 \pm 1/5$ و $4/0 \pm 7/7$ درصد به دست آمد. نمودار گستره‌ی اندازه‌ی ذرات و ریخت‌شناسی نمونه‌های CS اولیه، CsNPs/DOX و CsNPs به ترتیب در شکل ۱-الف، ب و ج نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، میانگین اندازه‌ی ذرات کیتوزان اولیه ۸۰ میکرومتر، میانگین اندازه‌ی نانوذرات کیتوزان بدون دارو حدود ۹۰ نانومتر و میانگین اندازه‌ی نانوذرات کیتوزان حاوی دوکسوروبیسین حدود ۱۰۴ نانومتر بود.

اندازه‌ی نانوذرات کیتوزان سترز شده در این پژوهش با دیگر مطالعات انجام گرفته در این رابطه مطابقت دارد (۲۲-۲۱). همچنین، از مقایسه‌ی اندازه‌ی نانوذرات کیتوزان قبل از بارگذاری دارو (۹۰ نانومتر) و پس از بارگذاری دارو (۱۰۴ نانومتر)، می‌توان نتیجه گرفت که میانگین اندازه‌ی ذرات پس از بارگذاری دارو اندکی افزایش یافته است. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning electron microscope یا SEM) شکل ۱ نشان دهنده‌ی ریخت‌شناسی پولک مانند ذرات کیتوزان اولیه و ریخت‌شناسی کروی نانوذرات کیتوزان بدون دارو و حاوی دارو است.

برای بررسی پایداری نانوذرات کیتوزان در کلونید آمون پتانسیل زتا انجام گرفت. نمودار توزیع بار سطحی نانوذرات کیتوزان در شکل ۲-الف مشاهده می‌شود. مقدار بار سطحی نانوذرات کیتوزان، $2/3 \pm$ میلی‌ولت به دست آمده است که پایداری به نسبت خوب ذرات کلونیدی را نشان می‌دهد. بار سطحی بالای نانوذرات با افزایش نیروی دافعه‌ی بین ذرات، از به هم چسبیدن آن‌ها جلوگیری می‌کند و موجب افزایش پایداری و زمان نگهداری آن‌ها می‌شود. پس از سترز نانوذرات کیتوزان و بارگذاری دارو، پتانسیل زتا بار دیگر روی نانوذرات کیتوزان حامل دارو انجام شد که نتیجه‌ی آن در شکل ۲-ب نشان داده شده است. بار سطحی نانوذرات کیتوزان حامل دارو نیز $1/83 \pm$ میلی‌ولت گزارش شده است که نشان از پایداری ذرات کلونیدی حامل دارو دارد.

(۲۰ میلی گرم نانوذرات) تهیه شد. این فرایند تحت هم زدن در تاریکی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق انجام شد. نانوذرات حامل دارو در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد با استفاده از سانتریفیوژ با شتاب 10000 دور در دقیقه به مدت یک ساعت جدا شدند. با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-Vis (PerkinElmer Lambda 35, USA) مقدار داروی آزاد در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. نانوذرات حامل دارو سه بار با آب دیوار تقطیر شسته و سانتریفیوژ شد و سپس به مدت یک شب در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در آون خشک شد.

مقدار داروی بارگذاری شده بر روی نانوذرات کیتوزان و راندمان بارگذاری دارو:

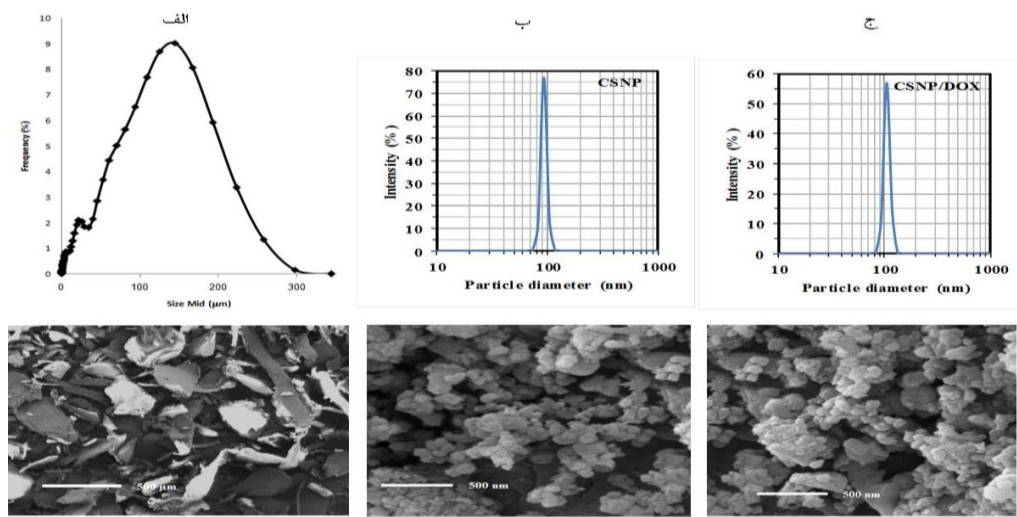
راندمان بارگذاری دارو: راندمان بارگذاری و کپسوله شدن دارو در نانوذرات کیتوزان از طریق محاسبه‌ی اختلاف بین وزن کل دارو (W_t) و وزن داروی آزاد (W_f) در محلول و با دانستن وزن نانوذرات (W_{np})، مورد اندازه‌گیری و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تمام وزن‌ها بر حسب میلی گرم بودند. داده‌ها از طریق تعیین میانگین با سه اندازه‌گیری مستقل به دست آمد. راندمان بارگذاری و کپسوله شدن دارو (بر حسب درصد) با استفاده از معادله‌های (۱) و (۲) محاسبه شد (۲):

$$\text{Loading content} = \frac{W_t - W_f}{W_{np}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Encapsulation efficiency} = \frac{W_t - W_f}{W_t} \times 100 \quad (2)$$

مشخصه یابی نانوذرات کیتوزان حامل دارو:

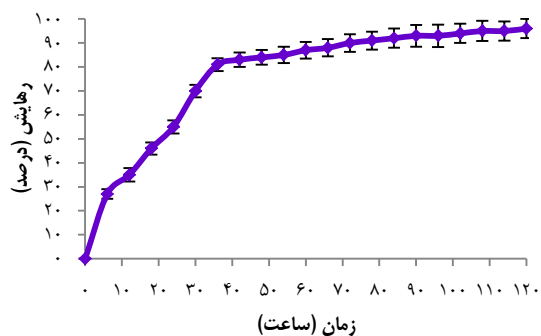
به منظور مقایسه‌ی اندازه‌ی ذرات کیتوزان اولیه‌ی مورد استفاده با اندازه‌ی ذرات نانوکیتوزان تهیه شده به روش ژل شدن یونی، نمودار توزیع اندازه‌ی ذرات تعیین شده به روش پراش لیزری با استفاده از استاندارد ISO 13320-2007 تهیه شد. اندازه‌ی ذرات نانوکیتوزان تهیه شده به روش ژل شدن یونی، با استفاده از روش پراکندگی نور پویا (Zetasizer Nano یا Dynamic light scattering یا DLS) با دستگاه (Malvern, UK) موجود در دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تعیین شد. همچنین، به منظور ارزیابی میزان پایداری نمونه، پتانسیل زتا اندازه‌گیری شد. به منظور آماده‌سازی نمونه، ۱۰۰ میکرولیتر کلونید حاوی نانوذرات خالص و کلونید حاوی نانوذرات حامل دارو به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و سپس، توسط دستگاه مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بررسی میزان بارگذاری و سپس ره‌ایش دارو، منحنی کالیبراسیون داروی دوکسوروبیسین در گستره‌ی غلظتی ۲۵-۵ میلی‌گرم/لیتر تهیه شد. برای اندازه‌گیری میزان ره‌ایش دارو به صورت *In vitro* سوسپانسیون حاوی پودر با وزن مشخص در ۵۰ میلی‌لیتر از بافر Phosphate-buffered saline (PBS) تهیه شد. غلظت دارو با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis (Ultraviolet-visible) استفاده شد.



شکل ۱. نمودار گستره‌ی اندازه‌ی ذرات و ریخت‌شناسی نمونه‌ها

الف) CS اولیه با متوسط اندازه‌ی ذرات ۱۴۰ میکرومتر، ب) Chitosan-based nanoparticles (CSNPs) با متوسط اندازه‌ی ذرات ۹۰ نانومتر و ج) CsNPs/Doxorubicin (CSNPs/DOX) با متوسط اندازه‌ی ذرات ۱۰۴ نانومتر

دارو می‌تواند به دلیل آزادسازی دارو از سطح نانوذرات باشد. پس از آن، نانوذرات کیتوزان شروع به جذب آب می‌کنند و در آب هیدرولیز می‌شوند و آن بخش از دارو که در ساختار داخلی نانوذرات حبس شده است، آزاد می‌شود. بنابراین، در این مرحله ره‌آیش دارو با سرعت و نرخ پایینی اتفاق افتاده است؛ به طوری که طی ۸۴ ساعت مرحله‌ی دوم، حدود ۱۵ درصد از دارو آزاد شده است. در این مرحله، ره‌آیش دارو به صورت یکنواخت و با سرعت کم و به نسبت پایدار اتفاق افتاده است. نتایج به دست آمده از این پژوهش، با نتایج دیگر مطالعات انجام شده مطابقت دارد (۲۳-۲۴).



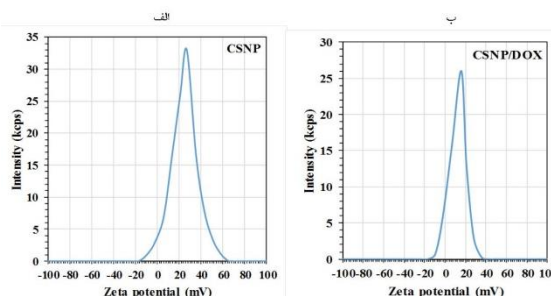
شکل ۳. نمودار ره‌آیش دارو از سامانه‌ی

Chitosan-based nanoparticles/Doxorubicin (CSNPs/DOX)

بحث

سامانه‌ی CSNPs/DOX مورد بررسی در این تحقیق، به روشی نو و منحصر به فرد که برای اولین بار طی این تحقیق گزارش شده است،

همچنین، از مقایسه‌ی پتانسیل زتای نانوذرات کیتوزان حامل دارو با نانوذرات کیتوزان بدون دارو، می‌توان نتیجه گرفت که با اضافه شدن دارو به نانوذرات، پتانسیل زتای آن‌ها تغییر چندانی نداشته است و نانوذرات همچنان پایدار خواهند ماند.



شکل ۲. پتانسیل زتای نمونه‌ها

الف) Chitosan-based nanoparticles (CSNPs) با پتانسیل زتای +۲۰۳ میلی‌ولت و ب) CsNPs/Doxorubicin (CSNPs/DOX) با پتانسیل زتای +۱۸۳ میلی‌ولت

ارزیابی ره‌آیش دارو از سامانه‌ی CSNPs/DOX

شکل ۳. منحنی ره‌آیش داروی دوکسوروبیسین، در بازه‌های زمانی شش ساعته‌ی به مدت ۵ روز (۱۲۰ ساعت) که توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis به دست آمده را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در این شکل مشاهده می‌شود، این منحنی از دو بخش تشکیل شده است. بخش اول، از ابتدای شروع آزمون تا ۳۶ ساعت که ره‌آیش قابل ملاحظه‌ای در حدود ۸۱ درصد اتفاق می‌افتد و بخش دوم، از ۳۶ تا ۱۲۰ ساعت که دارو با سرعت آهسته‌ای ره‌آیش می‌یابد و به ۹۶ درصد می‌رسد. به نظر می‌رسد که در بازه‌ی اولیه، ره‌آیش بالای

پیوسته رهاسازی شده است. این در حالی است که در استفاده از این دارو به شیوه‌ی شیمی درمانی سنتی، تزریق به صورت یک جا انجام می‌شود و کل دز مصرفی دارو در واحد زمان به بیمار منتقل می‌گردد. این رهایش آهسته، به طور قطعی منجر به تأثیرگذاری بهتر دارو و اعمال مکانیسم آن در بازه‌ی زمانی رهایش بر روی سلول‌های سرطانی خواهد شد. به غیر از این تأثیر، نانوذرات کیتوزان به عنوان حامل دارو نه تنها زیست سازگار و زیست تخریب پذیر هستند، بلکه خود فعالیت ضد سرطانی دارند.

بنابراین، سامانه‌ی دارویی طراحی و ساخته شده در این مطالعه، به دلیل تأثیرگذاری مطلوب تر نسبت به داروی آزاد بر سلول‌های سرطانی، می‌تواند به عنوان گزینه‌ی بسیار جذاب در جایگزینی در استفاده از تزریق مستقیم دارو در درمان سرطان و کنترل رشد تومورها مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر، حاصل از طرح پژوهشی با شماره‌ی IR-PNU-1397-032 می‌باشد که توسط دانشگاه پیام نور اصفهان حمایت مالی شده است. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه پیام نور اصفهان به دلیل این حمایت تشکر و قدردانی نمایند.

طراحی و ساخته شده است. ورشوساز و همکاران (۱۶) دوکسوروبیسین را بر روی نانوذرات کیتوزان کتوزگه با رتینوئیک اسید به روش متفاوتی بارگذاری کردند. در این روش، اندازه‌ی نانوذرات ۲۸۶ نانومتر و درصد بارگذاری دارو ۴۳ درصد گزارش شده است. این در حالی است که تهیه‌ی نانوذرات و بارگذاری دوکسوروبیسین بر روی آن به روش شرح داده شده در این مقاله، منجر به حصول نانوذراتی با اندازه‌ی کوچک‌تر (حدود ۱۰۰ نانومتر) و درصد بارگذاری داروی بیشتر (حدود ۶۱ درصد) شده است. همچنین، هداوند میرزایی و همکاران (۱۷) طی تحقیقی توانستند به اندازه‌ی نانوذرات ۱۵۰ نانومتر و با درصد داروی بارگذاری شده پایین تر از نتایج به دست آمده در این تحقیق دست یابند. عتابی و همکاران (۱۸) نیز به روش متفاوتی داروی دوکسوروبیسین را بر روی نانوذرات کیتوزان بارگذاری نمودند و نتایج مطالعه‌ی آنان نشان داد که ظرفیت بارگذاری دارو حدود ۴۰ درصد می‌باشد. روش مورد استفاده در سنتز نانوذرات کیتوزان و بارگذاری دارو در این مقاله به گونه‌ای بهینه‌سازی شد که کوچک‌ترین اندازه‌ی ذره و بالاترین میزان بارگذاری دارو حاصل شود.

همان‌طور که ملاحظه می‌شود، رهایش داروی دوکسوروبیسین از این سامانه بسیار کنترل شده است؛ به طوری که ۹۶ درصد از کل داروی موجود در سامانه، طی ۱۲۰ ساعت به صورت آهسته و

References

- Ghahremani F, Shahbazi-Gahrouei D, Kefayat A, Motaghi H, Mehrgardi MA, Javanmard S. AS1411 aptamer conjugated gold nanoclusters as a targeted radiosensitizer for megavoltage radiation therapy of 4T1 breast cancer cells. *RSC Adv* 2018; 8(8): 4249-58.
- Guan X. Cancer metastases: Challenges and opportunities. *Acta Pharm Sin B* 2015; 5(5): 402-18.
- Muller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; 410(6824): 50-6.
- Roche H, Vahdat LT. Treatment of metastatic breast cancer: Second line and beyond. *Ann Oncol* 2011; 22(5): 1000-10.
- Blum RH, Carter SK. Adriamycin. A new anticancer drug with significant clinical activity. *Ann Intern Med* 1974; 80(2): 249-59.
- Akhtari J, Rezayat SM, Teymouri M, Alavizadeh SH, Gheybi F, Badiee A, et al. Targeting, bio distributive and tumor growth inhibiting characterization of anti-HER2 affibody coupling to liposomal doxorubicin using BALB/c mice bearing TUBO tumors. *Int J Pharm* 2016; 505(1-2): 89-95.
- Seah DS, Luis IV, Macrae E, Sohl J, Litsas G, Winer EP, et al. Use and duration of chemotherapy in patients with metastatic breast cancer according to tumor subtype and line of therapy. *J Natl Compr Canc Netw* 2014; 12(1): 71-80.
- Yih TC, Al-Fandi M. Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. *J Cell Biochem* 2006; 97(6): 1184-90.
- Assa F, Jafarizadeh-Malmiri H, Ajamein H, Vaghari H, Anarjan N, Ahmadi O, et al. Chitosan magnetic nanoparticles for drug delivery systems. *Crit Rev Biotechnol* 2017; 37(4): 492-509.
- Kumar B, Jalodia K, Kumar P, Gautam HK. Recent advances in nanoparticle-mediated drug delivery. *J Drug Deliv Sci Technol* 2017; 41: 260-8.
- Pillai KKS, Paul W, Sharma CP. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Prog Polym Sci* 2009; 34(7): 641-78.
- Bansal V, Sharma PK, Sharma N, Pal OP, Malviya R. Applications of chitosan and chitosan derivatives in drug delivery. *Advan Biol Res* 2011; 5(1): 28-37.
- Prabaharan M. Chitosan-based nanoparticles for tumor-targeted drug delivery. *Int J Biol Macromol* 2015; 72: 1313-22.
- Puts MT, Tu HA, Tourangeau A, Howell D, Fitch M, Springall E, et al. Factors influencing adherence to cancer treatment in older adults with cancer: A systematic review. *Ann Oncol* 2014; 25(3): 564-77.
- Arias JL. Novel strategies to improve the anticancer action of 5-fluorouracil by using drug delivery systems. *Molecules* 2008; 13(10): 2340-69.

16. Varshosaz J, Hassanzadeh F, Sadeghi-Aliabadi H, Ghelichkhan Z. cytotoxic effects of chitosan/retinoic acid/albumin targeted nanoparticles loaded with doxorubicin on human hepatoma cells. *J Isfahan Med Sch* 2013; 30(218): 2206-16. [In Persian].
17. Hadavand Mirzaie Z, Irani S, Atyabi F. Comparison of cytotoxicity chitosan- docetaxel nanoparticles and free drug on MDA-MB-231 breast cancer cells. *Razi J Med Sci* 2016; 23(144): 9-18. [In Persian].
18. Atabi F, Mousavi Gargari S L, Hashemi M, Yaghmaei P. Designing and comparison of two types of chitosan nanogels for doxorubicine delivery. *Modares J Med Sci Pathol* 2015; 18(2): 53-67. [In Persian].
19. Vaezifar S, Razavi S, Golozar MA, Karbasi S, Morshed M, Kamali M. Effects of some parameters on particle size distribution of chitosan nanoparticles prepared by ionic gelation method. *J Clust Sci* 2013; 24(3): 891-903.
20. Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, McLeod H, Klein TE, et al. Doxorubicin pathways: Pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genomics* 2011; 21(7): 440-6.
21. Hu B, Pan C, Sun Y, Hou Z, Ye H, Zeng X. Optimization of fabrication parameters to produce chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for delivery of tea catechins. *J Agric Food Chem* 2008; 56(16): 7451-8.
22. Antoniou J, Liu F, Majeed H, Qi J, Yokoyama W, Zhong F. Physicochemical and morphological properties of size-controlled chitosan tripolyphosphate nanoparticles. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2015; 465: 137-46.
23. Pei HN, Chen XG, Li Y, Zhou HY. Characterization and ornidazole release in vitro of a novel composite film prepared with chitosan/poly(vinyl alcohol)/alginate. *J Biomed Mater Res A* 2008; 85(2): 566-72.
24. Martinez-Gomez F, Guerrero J, Matsuhira B, Pavez J. In vitro release of metformin hydrochloride from sodium alginate/polyvinyl alcohol hydrogels. *Carbohydr Polym* 2017; 155: 182-91.

Preparation and Characterization of Drug-Delivery System of Chitosan Nanoparticles Containing Doxorubicin for Use in the Treatment of Breast Cancer

Sedigheh Vaezifar¹ , Mohammad Molaei²

Original Article

Abstract

Background: Drug-delivery systems have exhibited many advantages over intravenous or oral drug administration, especially for cancer treatment. Therefore, biodegradable implants have received lots of attention for controlled delivery and release of anticancer drugs.

Methods: In the present study, chitosan-based nanoparticles (CsNPs) were prepared using ionic gelation method, and were used as carrier for loading doxorubicin (DOX). CsNPs were characterized before and after the drug loading by scanning electron microscopy (SEM), dynamic light scattering (DLS), and zeta potential.

Findings: The in-vitro assessments showed that drug release profile of CsNPs/DOX exhibited an appropriate release rate that could be more effective against the cancer cells; as the controlled release of drug in a dedicated period (0-120 hours), could tend to more effectiveness in fighting cancer cells.

Conclusion: Based on the results of this research, the CsNPs/DOX system can be an appropriate choice for replacement of multiple-doses injections of doxorubicin for breast cancer treatment.

Keywords: Chitosan, Nanoparticles, Antitumor drug, Drug release, Doxorubicin, Breast cancer

Citation: Vaezifar S, Molaei M. Preparation and Characterization of Drug Delivery System of Chitosan Nanoparticles Containing Doxorubicin for Use in the Treatment of Breast Cancer. J Isfahan Med Sch 2019; 37(541): 1047-53.

1- Assistant Professor, Department of Medical Engineering, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Student, Department of Medical Engineering, Payame Noor University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Sedigheh Vaezifar, Email: s.vaezifar@pnu.ac.ir